

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
МІСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА імені О. М. БЕКЕТОВА

МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

до проведення лабораторних робіт

із навчальної дисципліни

«ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН»

(для здобувачів першого (бакалаврського) рівня вищої освіти денної форми навчання зі спеціальності 206 – Садово-паркове господарство)

Харків
ХНУМГ ім. О. М. Бекетова
2022

Методичні рекомендації до проведення лабораторних робіт із навчальної дисципліни «Фізіологія рослин» (для здобувачів першого (бакалаврського) рівня вищої освіти денної форми навчання зі спеціальності 206 – Садово-паркове господарство) / Харків. нац. ун-т міськ. госп-ва ім. О. М. Бекетова; уклад. У. М. Соколенко. – Харків : ХНУМГ ім. О. М. Бекетова, 2022. – 91 с.

Укладач канд. біол. наук., ст. викл. У. М. Соколенко

Рецензент

Я. В. Гончаренко, кандидат біологічних наук, доцент кафедри ландшафтного проектування та садово-паркового мистецтва Харківського національного університету міського господарства імені О. М. Бекетова

Рекомендовано кафедрою ландшафтного проектування та садово-паркового мистецтва, протокол № 12 від 29 червня 2022 р.

ЗМІСТ

1 ОСНОВИ БІОХІМІЇ	5
Лабораторна робота 1 Якісна реакція на виявлення білків. Біуретова реакція	5
Лабораторна робота 2 Фізико-хімічні властивості білків. Ізоелектрична точка. Осадження білків	7
Лабораторна робота 3 Вуглеводи та їх похідні в будові клітинної стінки рослин	11
Лабораторна робота 4 Якісні реакції на виявлення функціональних груп органічних речовин	14
Лабораторна робота 5 Виявлення запасних речовин у рослині. Перетворення їх в період спокою у деревних рослин	17
Лабораторна робота 6 Сольова екстракція ДНК.....	20
2 РОСЛИНА ЯК ОСМОТИЧНА СИСТЕМА	23
Лабораторна робота 7 Водний потенціал та тургорний тиск рослинної клітини.....	23
Лабораторна робота 8 Визначення осмотичного тиску клітинного соку методом плазмолізу	26
Лабораторна робота 9 Порівняння проникності клітинних мембран для різних речовин.....	30
3 ВОДНИЙ РЕЖИМ РОСЛИН.....	33
Лабораторна робота 10 Рух проридхів листка	33
Лабораторна робота 11 Транспірація рослин. Визначення кількості проридхів за допомогою відбитків.....	34
Лабораторна робота 12 Визначення показників транспірації та їх залежності від умов середовища	38
4 КОРЕНЕВЕ ЖИВЛЕННЯ РОСЛИН	43
Лабораторна робота 13 Фізіологічна реакція солей	43
Лабораторна робота 14 Живильні розчини та гідропоніка.....	44
Лабораторна робота 15 Ознаки мінерального голодування у рослин.....	47
Лабораторна робота 16 Антагонізм іонів та його вплив на ріст і розвиток рослин.....	50

5	ФОТОСИНТЕЗ	52
	Лабораторна робота 17 Хімічні властивості пігментів рослин	52
	Лабораторна робота 18 Розділення пігментів методом паперової хроматографії.....	55
	Лабораторна робота 19 Антоціани та рН середовища	56
	Лабораторна робота 20 Оптичні властивості пігментів фотосинтезу	59
6	ДИХАННЯ РОСЛИН.....	62
	Лабораторна робота 21 Ферменти дихання. Виявлення пероксидази в рослинних тканинах.....	62
	Лабораторна робота 22 Визначення активності каталази у рослинних матеріалах	63
	Лабораторна робота 23 Втрата сухої органічної речовини під час проростання насіння	65
7	РІСТ І РОЗВИТОК РОСЛИН.....	68
	Лабораторна робота 24 Вивчення впливу фітогормонів та ріст і розвиток рослин	68
	Лабораторна робота 25 Вплив газоподібних виділень рослин на проростання насіння	71
	Лабораторна робота 26 Полярність живців.....	73
	Лабораторна робота 27 Особливості росту органів рослин	75
	Лабораторна робота 28 Онтогенез рослин. Тривалість періоду глибокого спокою у різних видів рослин.....	78
	Лабораторна робота 29 Фенологічні ритми у рослин	80
8	СТІЙКІСТЬ ТА АДАПТАЦІЯ РОСЛИН.....	84
	Лабораторна робота 30 Морозостійкість рослин. Захисна дія цукрів на клітинні мембрани рослин та запобігання коагуляції білків за умови від'ємних температур	84
	Лабораторна робота 31 Метод П'ятницького для визначення водоутримувальної здатності листя і пагонів	86
	СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	89

1 ОСНОВИ БІОХІМІЇ

Лабораторна робота 1 Якісна реакція на виявлення білків. Біуретова реакція

Теоретичні відомості. Білки – це у більшості випадків полімери, що складаються з амінокислот, як правило, більше 40–50 мономерних одиниць (якщо менше – називають пептидами).

Амінокислоти – це похідні карбонових кислот, в яких один атом водню біля α -вуглецю заміщений на аміногрупу, і відрізняються вуглеводневим залишком R (рис. 1.1).

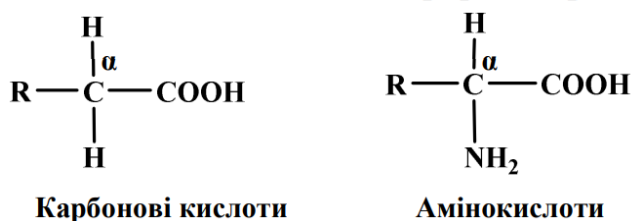


Рисунок 1.1 – Структурні формули карбонових кислот та амінокислот

Амінокислоти легко розчинні у воді. У розчинах вони проявляють амфотерні властивості та можуть реагувати як кислоти (донори протонів), або як основи (акцептори протонів). В кислому середовищі молекули амінокислот повністю протоновані й мають позитивний заряд. В лужному середовищі вони депротоновані й мають негативний заряд.

Мономери амінокислот утворюють полімери білків за рахунок пептидних зв'язків (рис. 1.2). Розрізняють пептиди або олігопептиди, якщо кількість амінокислот у складі молекули не перевищує 20–30 амінокислотних залишків та білки або поліпептиди.

Всі білки розділяють на два класи: протеїни, або прості білки, що побудовані тільки із залишків амінокислот, та протеїди, або складні білки, що містять простий білок, що пов'язаний з будь-якою сполукою небілкової природи (вуглеводи, білки, ліпіди, нуклеотиди).

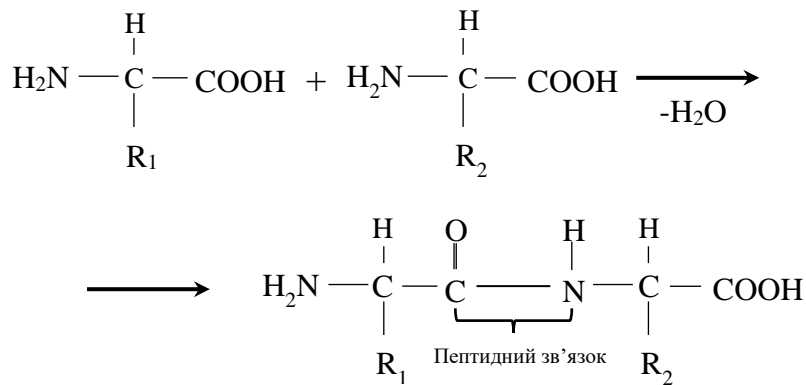


Рисунок 1.2 – Схема утворення дипептиду

Виявити наявність білків в речовині можна за допомогою якісних хімічних реакцій. Так, за наявності солей міді у лужному середовищі білки мають червонофіолетове або синьо-фіолетове забарвлення. Це є якісною реакцією (біуретова реакція) на пептидні зв'язки між амінокислотами білка, за допомогою яких утворюються з іонами міді солеподібні комплексні сполуки. Інтенсивність фіолетового забарвлення залежить від кількості пептидних зв'язків.

Мета роботи. Виявити білок у досліджуваному матеріалі за допомогою якісної реакції (біуретова реакція).

Матеріали та обладнання. Розбавлений 1%-й розчин яєчного білка; набухле насіння квасолі; 1 %-й та 5 %-й розчин сірчаної кислоти міді ($\text{CuSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$); 10 %-й та 30 %-й розчин їдкого натру (NaOH); скляні палички; штатив із пробірками; піпетки.

Хід роботи

1. До 3-х мл 1 %-го розчину яєчного білка додають 1 мл 10 %-го розчину їдкого натру і 2 краплі 1 %-го розчину сірчаної кислоти міді. У присутності білків та пептидів (починаючи з трипептидів) з'являється фіолетове забарвлення.

2. В результаті взаємодії більшості амінокислот з іонами металів одержують кристалічні хелатні солі (рис. 1.3).

3. *Виявлення білка в насінні.* Розтирають в ступці 0,5 г насіння з 2 мл 30 %-го розчину NaOH , додають 5 мл 5 %-го розчину CuSO_4 і продовжують

розтирання. Змивають кашицю 10 мл води в пробірку і ставлять відстоюватися. При наявності в насінні білка розчин над осадом забарвиться у фіолетовий колір.

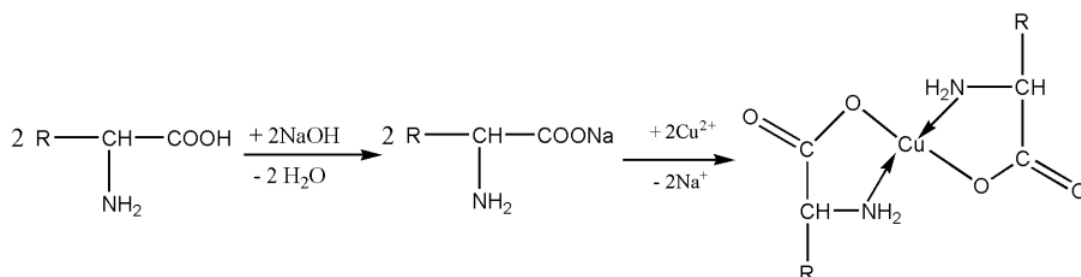


Рисунок 1.3 – Схема хімічних перетворень в ході біуретової реакції

Контрольні питання

1. Будова амінокислот та білків.
2. Поясніть спосіб виявлення пептидних зв'язків за допомогою біуретової реакції.

Лабораторна робота 2 Фізико-хімічні властивості білків. Ізоелектрична точка. Осадження білків

Теоретичні відомості. Якщо одна речовина подрібнена і рівномірно розподілена у іншій речовині (наприклад, у воді), то утворюється дисперсна система. Дисперсні системи залежно від рівня подрібненості часток можуть бути:

- а) грубодисперсними зависями (суспензіями) (розчинені частинки більше 100 нм),
- б) колоїдними розчинами (частинки від 1 до 100 нм),
- в) іонно-молекулярними або справжніми розчинами (частинки менше 1 нм).

Білки у водному розчині утворюють дисперсну систему колоїдного типу.

Всі білки (за винятком желатину) при нагріванні випадають в осад (згортаються). Ця реакція пришвидшується, коли рН середовища перебуває біля ізоелектричної точки.

Ізоелектрична точка (pI) відповідає значенню рН, при якому сумарний заряд молекули дорівнює нулю (рис. 1.4).



Рисунок 1.4 – Сумарний заряд молекули залежно від рН середовища

Ізоелектрична точка для білків – це слабкокислое або слабколужне середовище. У слабкокислому середовищі осаджуються білки, які проявляють кислотні властивості (мають високий вміст глютамінової та аспарагінової кислот), а в слабколужному осаджуються а білки, які проявляють лужні властивості (мають високий вміст аргініну, лізину та гістидину). У сильнокислих і сильнолужних розчинах денатурований при нагріванні білок не випадає в осад, оскільки білкові молекули перезаряджаються (або відбувається посилення наявного заряду) і несуть в кислому середовищі позитивний заряд, у лужному – негативний.

Солі важких металів (купрум, меркурій, цинк, срібло, свинець) осаджують білки, оскільки утворюють комплексні сполуки з SH- групами білків. Проте, при надлишку солей ацетату свинцю, сульфату купрум осад білку розчиняється. Катіони важких металів адсорбуються на поверхні колоїдних частинок, утворених молекулами білку. Одноіменно заряджені частинки відштовхуються і в результаті осад переходить у стійку дисперсну систему з ефектом опалесценції.

Органічні розчинники (спирт, діетиловий ефір, ацетон тощо) спричиняють дегідратацію та денатурацію білкових молекул. При низьких концентраціях, без нагрівання або при короткочасній дії, денатурація

оборотна. Якщо додавати до розчину NaCl (в якості електроліту), то осадження білків прискорюється.

Запасні білки є простими білками та відносяться до групи протеїнів. Відповідно до ступені розчинності, вони поділяються на наступні групи:

- 1) альбуміни – розчинні у воді;
- 2) глобуліни – розчинні в слабких розчинах нейтральних солей;
- 3) проламіни – розчинні в 70 %-му спирті;
- 4) глютеліни – розчинні в слабких розчинах лугів.

Найбільш поширені запасні білки в насінні належать до глобулінів.

Мета роботи. Дослідити фізико-хімічні властивості білків, їхню розчинність у різних розчинах за різних умов та осадження.

Матеріали та обладнання. 10 %-й розчин яєчного білка; горохове борошно; 10 %-й розчин $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; 1%-й розчин CH_3COOH ; 10 %-й розчин CH_3COOH ; 1 %-й розчин сірчаної кислоти міді ($\text{CuSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$); 10 %-й розчин їдкого натру (NaOH); 96 %-й розчин етилового спирту; насичений розчин хлориду натрію; скляні палички; штатив із пробірками; піпетки; сухий спирт; складчастий папір для фільтрування.

Хід роботи

Отримання витяжки білку глобуліну. 5 г горохового борошна насипають в склянку та додають 30 мл. 10 %-го сірчаної кислоти амонію. Склянку струшують протягом 3-х хвилин, дають відстоятися, верхній шар розчину фільтрують, попередньо змочивши фільтр тим самим розчином сірчаної кислоти амонію. Отриманий фільтрат є колоїдним розчином білку глобуліну.

Студенти формують 7–8 груп, кожна з яких працює з тим чи іншим випадком осадження білків: порівняння розчинності у воді яєчного білку (альбумінів) глобулінів, отриманих з горохового борошна, 5 випадків із нагріванням, осадження спиртом, солями важких металів та хлористим натрієм. Щоб порівняти залежність осадження білків від концентрації водневих іонів, у п'ять пробірок додають по 5 мл 1 %-го розчину яєчного білка.

Розчинність у воді

В пробірку з розчином глобуліну доливають воду до появи помутніння внаслідок випадання білку глобуліну в осад. Якщо додати розчин сірчаноокислого амонію, то помутніння зникне. Порівнюють з розчинністю яєчного білку, в якому присутній білок альбумін.

Осадження білків нагріванням

1. Нейтральний розчин білка в першій пробірці нагрівають до кипіння, він мутнішає, спостерігається опалесценція, що зумовлена руйнуванням гідратної оболонки навколо молекули білка та збільшенням білкових часток. Але міцели білка заряджені й тому залишаються в розчині, не випадаючи в осад.

2. Розчин у другій пробірці нагрівають до кипіння, вливають 1 мл 3 %-го розчину оцтової кислоти до появи слабкокислої реакції. Внаслідок відстоювання білок випадає в осад. За цих умов частки білка втрачають заряд, тому що рН середовища близька до ізоелектричного стану.

3. В третю пробірку вносять 3 мл 10 %-го розчину оцтової кислоти для створення кислої реакції середовища. Під час кип'ятіння розчину осад не утворюється, оскільки молекули білка набувають позитивного заряду, що підвищує їх стійкість.

4. У четверту пробірку додають 5 мл 10 %-го розчину оцтової кислоти, 2 мл насиченого розчину хлориду натрію та нагрівають. Випадає білий осад. Його утворення викликане тим, що білок внаслідок взаємодії з іонами хлориду натрію втрачає свій заряд.

5. У п'яту пробірку вносять 2 мл 10 %-го розчину гідроксиду натрію для створення лужного середовища. Під час кип'ятіння рідини осад не утворюється, оскільки в лужному середовищі збільшується від'ємний заряд білка.

Осадження білків органічними розчинниками та хлористим натрієм

В 2 пробірки з колоїдним розчином яєчного білка додають 3 мл 96 %-го розчину етилового спирту. Розчини в обох пробірках мутнішають. Якщо до

однієї з них додати 1 мл насиченого розчину хлориду натрію, через деякий час білок випадає в осад.

За високої концентрації середніх солей (сульфату амонію, хлориду натрію), молекули яких у водних розчинах гідратовані, руйнуються гідратні оболонки білкових молекул. У результаті цього знижується електричний заряд білкової молекули іонами солі, які адсорбуються на ній, частки білка злипаються одна з одною, укрупнюються та випадають в осад.

Осадження білків іонами важких металів

Солі важких металів (міді, ртуті, цинку, срібла, свинцю) осаджують білки в результаті утворення комплексних сполук із тіоловими групами білків.

У пробірку додають по 3 мл 10 %-го розчину яєчного білка та дві–три краплі 1 %-го розчину сульфату міді. Спостерігають утворення осаду. Внаслідок додавання надлишку розчинів сульфату міді осад, що утворився, розчиняється. Це пов'язано з тим, що надлишок іонів цих металів, адсорбуючись на поверхні білкових часток, викликає перезарядку білкового комплексу, внаслідок чого він переходить у розчин.

Контрольні питання

1. В чому полягає суть осадження білків в розчині?
2. Поясніть процеси, що відбувається під час осадження білків нагріванням, етиловим спиртом, солями важких металів та хлористим натрієм.
3. Зробіть висновки про різницю хімічних властивостей розчинів білків з яєчного білку та горохового борошна.

Лабораторна робота 3 Вуглеводи та їх похідні в будові клітинної стінки рослин

Теоретичні відомості. Клітинні стінки різних рослин відрізняються за формою і будовою. Це зумовлено в тому числі співвідношенням вмісту органічних речовин у клітинній стінці. Можна виділити 3 основних види

речовин, які переважають у складі первинної клітинної стінки. Це пектини, геміцелюлози (головним чином, ксилоглюкан, на відміну від ксилану вторинних стінок), целюлоза. При формуванні вторинної клітинної стінки з внутрішнього боку первинної стінки створюється додатковий шар целюлози, лігніну у клітинних стінках ксилеми та суберину в стінках клітин пробки.

Пектини. Пектини відкладаються в клітинних стінках всіх рослин. Вони складають основну масу відразу після поділу рослинної клітини. У деяких клітин клітинну стінку переважно складають пектини. У водному середовищі пектини гідратуються та утворюють желеподібний розчин. Частина рослин, у клітинній стінці яких переважають пектини, є м'якими та желеподібними (помідор, виноград, стиглі сливи). Це полісахариди (гетерополісахариди), побудовані із залишків галактуронової кислоти, яка є продуктом окислення глюкози. Вони є неоднорідними і зустрічаються у вигляді протопектину, пектину, пектинової та пектової кислоти.

Оболонки сусідніх клітин рослин з'єднані між собою серединною стінкою, що складається з пектатів магнію і кальцію, для яких характерна клейкість.

При дозріванні плодів протопектин клітинної стінки під дією ферментів переходить у пектин, а плоди і овочі розм'якшуються. Основна функція пектинових речовин – підтримувати тургор у тканинах.

Геміцелюлоза (або напівклітковина). Це структурована суміш різних складних некрохмальних і нецелюлозних полісахаридів рослин, які супроводжують целюлозу в стінках рослинних клітин (в деяких рослинах складає переважну частину вуглеводів), але гідролізуються значно легше за неї. На відміну від пектинів геміцелюлози не гідратуються і не набухають у воді. Багато геміцелюлози у плодах яблук, бульбах топінамбура, м'якоті гарбуза. Геміцелюлози здатні гідролізуватися та утворюють пентози й гексози. Геміцелюлози (зшивочні глікани) забезпечують нековалентні зшивання окремих фібрил целюлози.

Пектини, геміцелюлоза та деякі інші речовини (напр. білки) утворюють матрикс клітинної стінки, в який занурені фібрили целюлози (каркас клітинної стінки).

Целюло́за ($C_6H_{10}O_5$)_x. Це найбільш розповсюджений біополімер в живому світі, природний полімер, полісахарид, волокниста речовина, головна складова частина оболонки рослинних клітин. Целюлоза не розчинна у воді та не гідратується. Целюлозні оболонки міцні, але при цьому достатньо гнучкі. Вона виконує механічну (надає міцності), та захисну функцію в клітинах.

Лігнін. Це природний полімер (але не полісахарид), побудований із декількох ароматичних сполук ряду бензолу і геміцелюлози. Супроводжує целюлозу у здрев'янілих клітинних стінках. Він водонепроникний та твердий. Тому ті частини рослин, де багато лігніну, не в'януть, якщо залишити їх без води.

Лігнін хвойних рослин відрізняється за складом від лігніну листяних порід, цю властивість використовують для розпізнавання деревних зразків (якісна реакція Меуле).

Всі компоненти: пектини, геміцелюлоза, фібрили целюлози, – поєднані одні з одним в клітинній стінці, в тому числі і з допомогою білків.

Мета роботи. На основі форми клітин рослинного матеріалу, розглянутого під мікроскопом, зробити висновки про складові речовини клітинної стінки.

Матеріали та обладнання. Мікроскопи; предметні та покривні скельця; вода; помідор (виноград); яблуко; цибуля; банан.

Хід роботи

На предметні скельця нанести невелику частину приготованого рослинного матеріалу.

1. У помідорів найкраще брати слизисту частину перикарпію навколо насіння, накрити матеріал покривним скельцем та розглянути під мікроскопом, спочатку при невеликому збільшенні. Звернути увагу на розмір та форму клітин, багатих на пектин.

2. Щоб отримати одноклітинний шар, з мезокарпію яблука намагатися зрізати або зчистити якомога тонший шар. Крапнувши води, накрити покривним скельцем та розглянути під мікроскопом. Відмітити різницю між формою клітин м'якоті помідора та яблука. Пояснити, чим це зумовлено.

3. На предметне скло крапнути трохи води та помістити лучку цибулі. Розглянути приготований препарат під мікроскопом та відмітити особливості целюлозних оболонок клітин цибулі.

4. Щоб розглянути клітинні стінки, в яких відкладається лігнін, потрібно відокремити тяжі волокон від шкірки банана та промити їх водою. Під мікроскопом можна спостерігати кільця лігніну, що відкладаються в клітинних стінках провідної тканини ксилеми шкірки банана.

Контрольні питання

1. Опишіть складові клітинної стінки рослин та їхні основні функції.
2. За якими ознаками можна визначити наявність тих чи інших полісахаридів та природних полімерів в клітинних стінках рослин?

Лабораторна робота 4 Якісні реакції на виявлення функціональних груп органічних речовин

Теоретичні відомості. Хімічні властивості органічних сполук визначаються особливостями їх будови та наявністю *функціональних груп*. Під терміном «функціональні групи» розуміють реакційноздатні угруповання атомів (рідше окремі атоми), що входять до складу органічних сполук і надають їм певних хімічних властивостей. До найважливіших функціональних груп належать: гідроксильна ($-\text{OH}$), альдегідна ($-\text{CHO}$), карбонільна ($-\text{C}=\text{O}$), карбоксильна ($-\text{COOH}$), тіолова ($-\text{SH}$), аміногрупи (первинна $-\text{NH}_2$, вторинна $=\text{NH}$ і третинна $\equiv\text{N}$), а також сульфатна ($-\text{OSO}_3\text{H}$), фосфатна група ($-\text{OPO}_3\text{H}_2$) тощо. Для сполук із спиртовими групами найважливішими є реакції утворення алкоголятів, простих та складних ефірів, дегідратації, окиснення; для сполук з

карбонільною групою – окиснення, відновлення, поліконденсації; для сполук з карбоксильною групою – електролітична дисоціація, утворення іонів типу амонію. У живих організмах широко розповсюджені речовини зі змішаними функціями, наприклад, альдегідоспирти HO-R-COH , спиртокислоти HO-R-COOH , кетокислоти OC-R-COOH , амінокислоти $\text{H}_2\text{N-R-COOH}$ тощо. Властивості цих сполук залежать як від властивостей кожної функціональної групи зокрема, так і від особливостей взаємодії цих груп.

Мета роботи. Виявлення гідроксильних та альдегідних функціональних груп у цукрах.

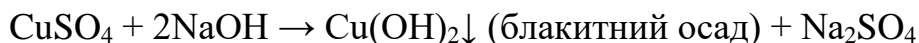
Матеріали та обладнання. Розчини глюкози, сахарози, гідроксиду натрію, сульфату міді (всі 5 %-ві); водні витяжки яблука, цибулі; скляні палички; пробірки; піпетки градуйовані; штатив для пробірок; сухий спирт.

Хід роботи

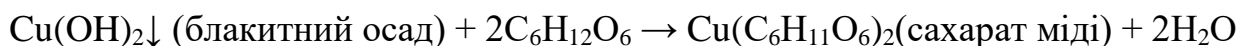
Доказ наявності гідроксильних груп у глюкозі та сахарозі

1. Готують пробірки для кожного досліджуваного розчину: глюкози, сахарози, водних витяжок яблука, цибулі. В кожну пробірку вносять 3 мл розчину гідроксиду натрію і 2 мл розчину сульфату міді. До отриманої суміші додають 2 мл розчину глюкози та сахарози та 4 мл водної витяжки досліджуваних рослинних матеріалів.

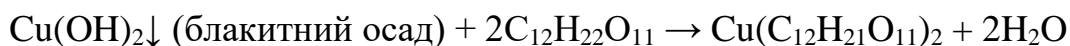
2. Утворений спочатку осад гідроксиду міді Cu(OH)_2 швидко розчиняється і виходить прозорий розчин хелатного з'єднання сахарата міді з синім забарвленням. Розчинення гідроксиду міді (II) вказує на наявність декількох гідроксильних груп в глюкозі та сахарозі.



При додаванні глюкози



При додаванні сахарози

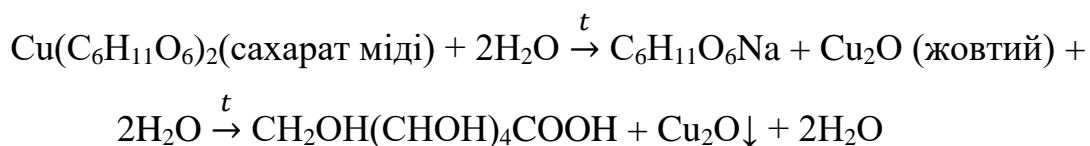


Реакція Троммера. Виявлення альдегідних груп в цукрах

3. Утворені розчини нагрівають у лужному середовищі до кипіння. Осад $\text{Cu}(\text{OH})_2$ має бути свіжим, бо з часом кристалізується втрачаючи активність. У пробірці з глюкозою спостерігається утворення жовтого осаду CuOH , який з часом внаслідок перетворення CuOH на Cu_2O змінює забарвлення на червоне, що вказує на позитивну реакцію Троммера та присутність альдегідних груп у глюкозі.

4. Таким чином, розчин з глюкозою відновлює гідроксид купруму (II) до оксиду купруму (I), глюкоза при цьому окиснюється до відповідних альдонових кислот (спочатку утворюється сіль, а потім внаслідок гідролізу утворюється глюконова кислота). Якщо гідроксид купруму в надлишку, то у розчині утворюється чорний осад CuO , який заважає визначенню та маскує позитивну реакцію.

Комплекс реакцій у розчині з глюкозою



5. У розчині з сахарозою не утворюється цегляно-червоного осаду оксиду міді, оскільки сахароза не проявляє відновлювальних властивостей та не має у своєму складі альдегідних груп на відміну від моносахаридів та деяких інших дисахаридів.

Контрольні питання

1. Поясніть значення терміну «функціональна група». Перерахуйте найбільш поширені функціональні групи.
2. Опишіть спосіб виявлення гідроксильних груп у глюкозі та сахарозі.
3. Опишіть спосіб виявлення альдегідних груп у цукрах.

Лабораторна робота 5 Виявлення запасних речовин у рослині.

Перетворення їх в період спокою у деревних рослин

Теоретичні відомості. Речовини живого вмісту рослинної клітини, протопласту і продукти його життєдіяльності, дуже різноманітні. Умовно їх об'єднують в дві групи:

1) конституційні, що входять до складу живої матерії, і беруть участь в обміні речовин (білки, нуклеїнові кислоти, ліпіди, вуглеводи та ін.);

2) ергастичні включення – це компоненти протопласту, що грають допоміжну роль в його житті і є або джерелами матерії і енергії під час росту і роботи живої клітини або продуктами її метаболізму. Одні з них – це «витратні» речовини, що беруть участь в процесах обміну речовин (білки, ліпіди, вуглеводи). Інші речовини – кінцеві продукти, наприклад, солі кальцію.

Крохмаль (після целюлози) є найпоширенішим в рослинному світі вуглеводом. Крохмаль утворюється в хлоропластах під час фотосинтезу (асиміляційний або первинний крохмаль). Пізніше він руйнується і синтезується в амілопластах як запасний або вторинний крохмаль.

Запасні білки найбільш часто відкладаються у вигляді зерен округлої або овальної форми, названих алейроновими. Це прості білки – протеїни. Вони відкладаються в вакуолях або лейкопластах (алеїронопласти). Запасними білками дуже багаті насіння бобових і злакових рослин. Велика кількість білків знаходиться в клітинах, розташованих під насінневою шкіркою, у так званому алейроновому шарі.

Ліпіди є структурними компонентами клітини (входять до складу мембран, утворюють ліпідні краплі в цитоплазмі) або ергастичними речовинами. Запасні масла зазвичай відкладаються в лейкопластах, названих олеопластами.

Коли деревні та чагарникові рослини переходять в стан спокою, відбувається утворення запасів крохмалю у так званій перимедулярній зоні

навколо серцевини пагону. Навесні і до моменту сокоруху відбувається перетворення крохмалю на цукри.

Мета роботи. Виявити ліпіди, цукри і крохмаль в різних частинах рослини; визначити наявність запасних речовин в осінніх, зимових та весняних пагонах, пояснити причину їх зміни.

Матеріали та обладнання. Гілки деревних рослин; 30 %-й розчин NaOH; концентрований розчин CuSO_4 ; лужний розчин сегнетової солі (86,5 г сегнетової солі і 60 г NaOH в 100 мл води); йодна настоянка; спирт (30 мл); Судан III (10 мг судану в 5 мл спирту та 5 мл гліцерину); колба з водою; порцелянова ступка з товкачиком; штатив з пробірками; фільтрувальний папір; піпетки.

Хід роботи

Перетворення запасних речовин в період спокою у деревних рослин.

Для цього необхідно провести якісні реакції на крохмаль, ліпіди та глюкозу поперечних зрізів однорічних гілок деревних рослин (осінніх, фіксованих у спирті, зимових та весняних) діаметром не менше 0,5 см.

1. Реакція на крохмаль. Готують з допомогою бритви дуже тонкий поперечний зріз стебла, його розміщують на предметному склі в краплі розчину йоду і розглядають під мікроскопом спочатку на малому, а потім на великому збільшенні. Крохмальні зерна забарвлюються в синій колір, а великі здаються майже чорними.

2. Виявлення жирів. Тонкий зріз слід помістити в краплю розчину «Судан-III», закрити покривним склом і через 10 хв промити водою (або 70 %-м розчином спирту), висушити фільтрувальним папером і помістити у краплю гліцерину і розглянути під мікроскопом при великому збільшенні серцевину, серцевинні промені, деревну паренхіму і луб. Краплі ліпідів фарбуються в помаранчевий і червоний колір.

3. Виявлення глюкози. Розміщують зріз на предметне скло, додають по краплі розчинів гідроксиду натрію та сульфату міді і нагрівають до кипіння.

Утворений при цьому цегляно-червоний осад закису міді вказує на наявність глюкози.

4. Інший спосіб виявлення редукованих цукрів: досліджуваний пагін розрізати вздовж на відрізки 2 см та занурити в концентрований мідний купорос на 5 хв. Потім зрізи промити водою та занурити в киплячу в пробірці розчин сегнетової солі на 2 хв, вийняти, промити водою, зробити поперечні зрізи та розглянути під мікроскопом в краплі гліцерину. Утворений оксид міді матиме чорний або темно-червоний колір.

5. Порівнюють кількості запасних речовин в осінніх, зимових та весняних зразках. Замальовують анатомічний зріз пагону та відзначають, в яких тканинах виявлені ті чи інші запасні речовини і в якому обсязі (багато (+++), середня кількість (++) , мало (+), відсутні (-)). Дані заносять в таблицю 1.1.

Таблиця 1.1 – Вміст запасних речовин в осінніх, зимових та весняних деревних пагонах

Вид рослини	Час відбору зразків	Вміст запасних речовин		
		Крохмаль	Ліпіди	Глюкоза
	Осінь			
	Зима			
	Весна			

Контрольні питання

1. Які речовини вважаються запасними?
2. В який період року пагони мають максимальну кількість крохмалю, жирів, цукрів?
3. Спосіб відкриття цукрів в рослинній сировині, ліпідів та крохмалю.
4. Проаналізувавши отримані дані, зазначте, яка порода багатша жирами, а яка крохмалем, які перетворення спостерігаються з запасними речовинами в зимовий період і яке значення цих перетворень.

Лабораторна робота 6 Сольова екстракція ДНК

Теоретичні відомості. ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота – є полімерною речовиною, що забезпечує кодування та передачу генетичної інформації про той чи інший організм. Її складові, нуклеотиди, містять: вуглевод дезоксирибозу, що позбавлена однієї гідроксильної групи, тому має префікс дезокси-; також аденін і гуанін, похідні пурину (два гетероциклічних ароматичних кільця) та тимін і цитозин, похідні піримідину (одне гетероциклічне кільце) та залишок фосфорної кислоти. За рахунок відщеплення та приєднання атомів водню ДНК проявляє кислотні властивості.

ДНК живих організмів складається з подвійного ланцюга нуклеотидів, з'єднаними між собою водневими зв'язками, що утворюються між азотистими основами за принципом компліментарності (аденін завжди має подвійний водневий зв'язок з тиміном, а гуанін – потрійний водневий зв'язок з цитозином) (рис. 1.5).

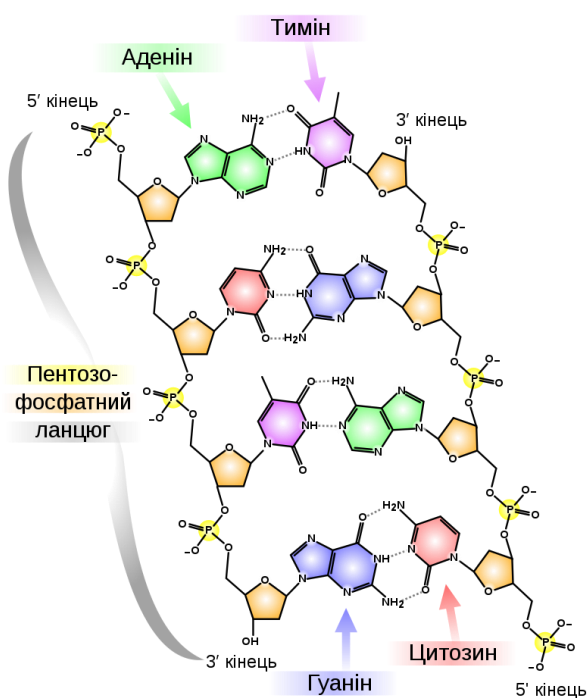


Рисунок 1.5 – Структура ДНК. Азотисті основи, розташовані відповідно до правила Чаргаффа, поєднані пентозофосфатним ланцюгом (©Madeleine Price Ball¹)

¹ URL: <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=17245011>

Подвійний ланцюг утворює спіраль, яка в свою чергу утворює суперзвивини навколо білків гістонів, формуючи нуклеосоми. Вони також упаковуються в більш щільну структуру, хромосому, яку можна побачити за допомогою звичайного світлового мікроскопу.

Сольову екстракцію ДНК можна здійснити практично з будь-якої живої рослинної речовини (і не тільки рослинної). Проте найлегше таким способом виділяти ДНК з плодів полуниці або банану (також можна використати ківі, помідори та інші плоди з соковитим оплоднем), клітинні стінки яких багаті на пектинові речовини, такі клітинні стінки відносно легко зруйнувати, просто розминаючи плід руками.

Мета роботи. Опанувати спосіб екстракції ДНК з рослинної клітини з використанням мильно-сольового розчину та етанолу.

Матеріали та обладнання. Дистильована вода (80–100 мл), 96 %-й етанол охолоджений (100 мл), рідкий детергент (миючий засіб) (15 мл), хлорид натрію NaCl (10 г), ваги лабораторні, фільтрувальний папір або марлевий відріз, лабораторні склянки, поліетиленові пакети із зіп-замком, полуниця (10 шт.) (банан, ківі, томат або ін.), скляні палички.

Хід роботи

1. Попередньо потрібно приготувати екстрагуючий розчин. В склянку налити 80 мл води, додати 15 мл миючого засобу та 10 г натрію хлору, добре перемішати, поки сіль не розчиниться.

2. В пакет із зіп-замком помістити полуницю та розім'яти її, таким чином руйнуючи клітинні стінки, що полегшить екстракцію ДНК.

3. В розм'якшену рослинну сировину виливаємо отриманий розчин для екстракції ДНК. Миючий детергент має подібну структуру до фосфоліпідного шару плазматичної мембрани рослинних клітин, утворюючи міцели у водному розчині, які назовні мають неполярні головки з полярними кінцями всередині. Міцели детергента при перемішуванні руйнують плазматичну мембрану рослинних клітин, вбудовуючи фосфоліпіди в свої міцели та вбудовуючись у фосфоліпідний бішар плазмалеми. Таким чином, ми

досягаємо руйнування мембрани клітини та ядра, що дозволяє вивільнити з них хромосоми. Крім того, сольовий розчин натрію хлору руйнує нуклеосоми ДНК, з'єднуючись з білками гістонами, що дає можливість краще екстрагувати ДНК.

4. Після ретельного перемішування вміст пакету потрібно процідити через паперовий фільтр або складену в декілька шарів марлю. На даному етапі потрібно слідкувати за мильною піною, яка може утворитись в ході виконання досліду. Потрібно обережно перемішувати вміст пакету та фільтрувати, щоб цього не сталось. Якщо ж піни не вдалося уникнути, то перед додаванням етанолу слід обережно прибрати піну з поверхні розчину.

5. Отриманий водно-сольовий розчин містить ДНК, яка розчинна у воді. Для того, щоб ДНК можна було відділити та побачити, використовують охолоджений етанол. Оскільки в спирті ДНК нерозчинна, то при збільшенні концентрації етанолу протягом декількох хвилин вона екстрагується на поверхні розчину у вигляді білих тяжів. З допомогою скляної палички можна виокремити ДНК з розчину та розглянути її ближче.

Контрольні питання

1. Опишіть будову та структуру ДНК.
2. Які етапи екстракції ДНК ви можете виділити, в чому полягає їхня суть.

2 РОСЛИНА ЯК ОСМОТИЧНА СИСТЕМА

Лабораторна робота 7 Водний потенціал та тургорний тиск рослинної клітини

Теоретичні відомості. Рослинні клітини є мікроскопічними осмотичними системами, оскільки плазмалема має властивості напівпроникних мембран. Всі біологічні мембрани є напівпроникними, одні речовини (воду, гази) вони пропускають, а інші (великі заряджені молекули, наприклад, глюкозу) – ні. Вибірковість транспорту речовин через мембрану вважається одним з ознак життя на клітинному рівні. Важливу роль у водному балансі рослинних клітин відіграє вакуоль – резервуар, обмежений тонопластом, в якому знаходиться вакуолярний сік, що складається з розчинених у воді цукрів, солей, органічних кислот і ін. Речовини вакуолярного соку представлені справжніми і колоїдними розчинами, що створюють осмотичний потенціал клітинного соку.

Для опису руху води через мембрани використовують поняття всмоктувальної сили, хоча останнім часом більше використовують термодинамічний показник *водний потенціал*. Він характеризує здатність води в даній системі робити роботу в порівнянні з тією роботою, яку зробила б чиста вода в тих же умовах, Водний потенціал для чистої води прийнятий за нуль ($\Psi_{\text{води}} = 0$), а для будь-якого розчину – менше нуля. Водний потенціал рослинної клітини як системи має вираз (2.1):

$$\Psi_{\text{кл}} = \Psi_{\text{п}} + \Psi_{\text{т}}, \quad (2.1)$$

де $\Psi_{\text{кл}}$ – водний потенціал клітини, що можна виразити умовно як прагнення води вийти з клітини;

$\Psi_{\text{п}}$ – осмотичний потенціал клітинного соку, який точніше можна виразити сумою $\Psi_{\text{п}} + \Psi_{\text{м}}$, тобто осмотичним тиском справжнього розчину та матричною компонентою осмотичного тиску, що виникає в результаті

взаємодії води з гідрофільними групами полімерів; це завжди від'ємна величина;

Ψ_T – потенціал тургорного тиску, який можна виразити як механічний тиск клітинної стінки на водний розчин; ця величина дорівнює нулю або більше нуля.

Приклад розрахунку водного потенціалу клітини та напрямку руху води

$$\Psi_{\text{кЛА}} = -900 \text{кПа} + 400 \text{кПа} = -500 \text{кПа}$$

$$\Psi_{\text{кЛБ}} = -800 \text{кПа} + 200 \text{кПа} = -600 \text{кПа}$$

Вода буде рухатися по градієнту водного потенціалу з клітини А в клітину Б (рис. 2.1).

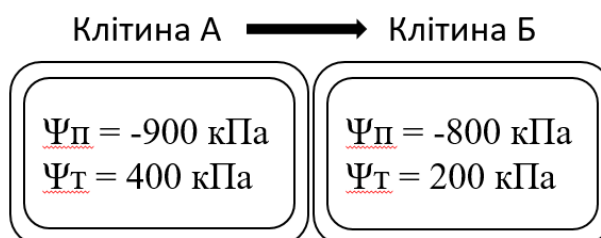


Рисунок 2.1 – Напрямок руху води відповідно до різниці водного потенціалу

Тургорний тиск (далі – Т) – гідростатичний тиск на клітинну стінку, а напружений стан клітинної стінки – *тургор*.

Гідростатичний або тургорний тиск розраховується за формулою (2.2) і дорівнює протитиску клітинної стінки:

$$T = -N. \quad (2.2)$$

Мета роботи. Визначити водний потенціал коренеплоду моркви та бульб картоплі відносно зовнішнього розчину.

Матеріали та обладнання. Розчини NaCl таких концентрацій (моль/л): 1; 0,8; 0,6; 0,5; 0,4; 0,3; 0,2; 0,1; вода; ніж; пінцет; годинник; лінійка; лабораторні склянки; картопля; морква.

Хід роботи

1. В підписані склянки налити розчини NaCl концентрацій (моль/л) 1; 0,8; 0,6; 0,5; 0,4; 0,3; 0,2 та 0,1. Виставити їх в ряд в міру зростання молярності розчину.

2. З бульби картоплі впоперек ножем вирізати пластинки товщиною 2–4 мм та довжиною 4–7 см (можна зробити смужки однакової довжини. Чим довші та тонші смужки, тим краще. Працювати потрібно швидко, щоб смужки не підсохли.

3. За допомогою лінійки швидко виміряти довжину смужок (з точністю до 0,5 мм) та відразу занурити в розчини, по дві смужки в кожний розчин.

4. Коренеплід моркви почистити та розрізати з нижнього кінця вздовж надвоє, але не до кінця.

5. Приготувати одну склянку з чистою водою та іншу з дуже концентрованим розчином NaCl, поставити їх поруч.

6. Занурити один надрізаний кінець коренеплоду моркви в склянку з чистою водою, а інший – в солоний розчин.

7. Через 20–30 хв поступово виймаючи смужки картоплі пінцетом з розчинів знову виміряти їхню довжину та записати результати в таблицю 2.1.

8. Визначити відносні (вище, нижче) водні потенціали для кожного виду розчину та смужки, занотувати в таблиці (табл. 2.1).

9. Вийняти коренеплід моркви, порівняти тургор обох частин коренеплоду. Вказати в таблиці 2.1 різницю водних потенціалів.

Таблиця 2.1 – Результати дослідів

Вихідні дані	Довжина смужки на початку дослідів	Довжина смужки в кінці дослідів	Водний потенціал вище (+) в розчині	Водний потенціал вище (+) в клітинах рослини
Смужки картоплі в розчинах різної концентрації				
0,1				
0,2				
0,3				
0,4				
0,5				
0,6				
0,8				
1,0				
Морква в сольовому розчині				
Морква в чистій воді				

Контрольні питання

1. Що таке водний потенціал?
2. Що таке водний потенціал рослинної клітини та від чого він залежить?
3. Дайте визначення тургорному тиску та тургору?
4. Які процеси можна пояснити, знаючи значення водного потенціалу різних середовищ?

Лабораторна робота 8 Визначення осмотичного тиску клітинного соку методом плазмолізу

Теоретичні відомості. *Осмотичний тиск* (далі – π) – це гідростатичний тиск, який потрібно прикласти до розчину з більшою концентрацією, щоб запобігти осмотичному надходженню в нього води через напівпроникну мембрану. За значенням (але протилежний за напрямом) він відповідає тому тиску, який створює розчин, втягуючи воду через напівпроникну мембрану.

Осмотичний тиск рівний за модулем та обернений за знаком до осмотичного потенціалу та розраховується за формулою (2.3):

$$\pi = -\Psi_{\text{п}}, \quad (2.3)$$

де π – осмотичний тиск;

$\Psi_{\text{п}}$ – осмотичний потенціал клітинного соку.

Отже, чим вища концентрація розчину, тим буде більше значення осмотичного тиску та менше значення осмотичного потенціалу. Але не тільки концентрація розчину визначає значення осмотичного тиску.

Вант-Гофф довів, що осмотичний тиск розчинів підпорядковується газовим законам, формула (2.4):

$$\pi = R \cdot C \cdot T \cdot i, \quad (2.4)$$

де π – осмотичний тиск, кПа;

R – газова стала (8,3 Дж/(моль·К));

C – ізотонічна концентрація, моль/л;

T – абсолютна температура, К ($273^{\circ} + t^{\circ}\text{C}$ (кімнатна));

i – ізотонічний коефіцієнт Вант-Гоффа (табл. 2.3). Для неелектролітів (наприклад, сахарози) $i = 1$.

Інколи осмотичний тиск виражають в атмосферах або барах

$$1 \text{ атм} = 1,013 \text{ бар} = 1,013 \cdot 10^5 \text{ Па} = 1,013 \cdot 10^2 \text{ кПа.}$$

Значення осмотичного тиску характеризує стійкість рослин до ґрунтової засухи. Визначення його в клітинах вегетативних тканин рослин можна використовувати для діагностики забезпечення рослин водою. В нормі осмотичний тиск в клітинах ріпчастої цибулі, бульбах картоплі повинен складати 1 500–2 000 кПа. Підвищення осмотичного тиску більше 2000 кПа свідчить про недостатню зволоженість та може призвести до пересихання овочів, а менше – 1 500 кПа – до загнивання.

Залежно від осмотичного тиску зовнішнього розчину відносно внутрішньоклітинного виділяють три типи зовнішніх розчинів.

Гіпотонічний розчин, осмотичний тиск, якого менше, ніж внутрішньоклітинний, що призводить до збільшення об'єму клітини

Ізотонічний розчин, осмотичний тиск якого дорівнює внутрішньоклітинному, об'єм клітини залишається сталим.

Гіпертонічний розчин, осмотичний тиск якого вище, ніж внутрішньоклітинний, що призводить до виходу води з клітини, зменшення об'єму клітини та відділення протопласту від клітинної стінки.

Явище відділення протопласту від клітинної стінки називається **плазмолізом**. Плазмоліз дають тільки живі клітини, тому тест на плазмоліз застосовується як один із методів діагностики життєвого стану рослинних клітин та тканин. Після розміщення плазмолізованої клітини в воду чи гіпотонічний розчин вода надходить до клітини, об'єм клітини збільшується та відбувається явище *деплазмолізу*, контакт протопласту з клітинною стінкою відновлюється.

Виділяють також явище *циторизу*, яке відбувається при швидкому висушуванні висушуваних клітин. В такому випадку протопласт не відділяється від клітинної стінки, а тягне за собою її певні ділянки всередину клітини.

Для визначення осмотичного тиску клітинного соку рослинної клітини знаходять осмотичний тиск ізотонічного зовнішньоклітинного розчину. Цей метод заснований на пошуку пограничних концентрацій зовнішнього розчину, один з яких ще не викликає плазмолізу, а інший спричинює початковий плазмоліз. Концентрація ізотонічного розчину дорівнює середньому арифметичному між концентраціями цих пограничних розчинів. При цьому потрібно враховувати, що не можна робити висновок про наявність плазмолізу на основі спостереження за декількома клітинами. Внаслідок індивідуальних осмотичних властивостей клітин, це дасть неточні результати, тому під мікроскопом необхідно розглянути декілька полів зору.

Мета роботи. Визначити осмотичний тиск рослинних клітин методом плазмолізу.

Матеріали та обладнання. Розчини NaCl таких концентрацій (моль/л): 0,8 0,6; 0,5; 0,4; 0,3; 0,2; 0,1, вода, ніж, пінцет, годинник, лабораторні склянки, цибуля, мікроскопи, предметні та покривні скельця, скляна паличка.

Хід роботи

1. В підписані лабораторні склянки налити розчини NaCl концентрацій 0,8 0,6; 0,5; 0,4; 0,3; 0,2; 0,1 (моль/л).
2. Зняти епідерміс лусочок цибулі у розрахунку 2 шт. на склянку та помістити в склянку з водою
3. Зрізи з води перенести в кожен склянку з підписаними розчинами, при цьому прослідкувати, щоб зрізи не плавали на поверхні, а були занурені в розчин.
4. Через 20 хв після занурення розглянути під мікроскопами всі зрізи. Якщо зрізи будуть розглядатися не синхронно, а по черзі, то в такому ж порядку та з відповідним часовим інтервалом потрібно попередньо занурювати їх в склянки з сольовими розчинами.

5. Визначити ступінь плазмолізу в кожному з розчинів, розглянувши під мікроскопом всі зрізи в декількох полях зору (огляд починати з найбільш концентрованого розчину). Знайти два пограничних розчини, в одному з яких ще немає плазмолізу, а наступному вже спостерігається початковий плазмоліз не менше, ніж у 50 % клітин. Результати досліду занести в таблицю 2.2, сказавши ступінь плазмолізу (початковий, середній, сильний).

6. Знайти та записати значення ізотонічної концентрації як арифметичне середнє між концентраціями двох пограничних розчинів.

7. Знаючи ізотонічну концентрацію зовнішнього розчину, розрахувати величину осмотичного тиску (π) по формулі Вант-Гоффа (для отримання значення ізотонічного коефіцієнту скористатись таблицею 2.3).

8. Зробити висновки та визначити, чи осмотичний тиск клітин цибулі є оптимальним для зберігання.

Таблиця 2.2 – Результати проведення досліду

Концентрація розчину, моль/л	0,8	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1
Наявність плазмолізу та його ступінь							

Таблиця 2.3 – Значення ізотонічного коефіцієнту для розчинів NaCl різних концентрацій

Концентрація розчину NaCl, моль/л	1,0	0,8	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1
Ізотонічний коефіцієнт	1,62	1,64	1,68	1,70	1,73	1,75	1,78	1,83

Контрольні питання

1. Що таке осмотичний тиск та він чого залежить його значення?
2. Які розчини називають гіпо-, ізо- та гіпертонічними?
3. Що таке плазмоліз, деплазмоліз, циториз?
4. На чому заснований метод визначення осмотичного тиску методом плазмолізу?

Лабораторна робота 9 Порівняння проникності клітинних мембран для різних речовин

Теоретичні відомості. Лабільна структура клітинних мембран дозволяє їм виконувати різні функції: бар'єрну, транспортну, осмотичну, електричну, структурну, енергетичну, секреторну, травну і ін. Одним з найважливіших властивостей мембран є *вибіркова проникність*. Одні речовини мембрани пропускають зі значною швидкістю, інші – з меншою або взагалі не пропускають. Наприклад, фарба нейтральний червоний проникає в живу клітину і накопичується там в значній кількості, а у неживу клітину, навпаки, погано проникає. У той же час жива цитоплазма непроникна для індигокарміну і кислого фуксину, а нежива – проникна. На фарбуванні цими барвниками засновано визначення життєздатності тканин бульб, насіння, їх зародків і т.д.

Вибіркова проникність мембран забезпечує проходження через них молекул води, перешкоджає проникненню розчинених у воді речовин і обумовлює явище плазмолізу при дії на клітину гіпертонічного розчину. Якщо ж молекули розчиненої речовини через мембрану проходять (наприклад, гліцерину), але повільніше, ніж молекули води, то плазмоліз потім зникає. Деплазмоліз відбувається в результаті поступового проникнення розчиненої речовини в клітину, зміни водного потенціалу зовні і всередині, а також надходження води в клітину із зовнішнього розчину по градієнту водного потенціалу.

Типи плазмолізу клітин представлені на рисунку 2.2.

Іони K^+ порівняно добре проникають через плазмалему і значно гірше через тонопласт. Накопичуючись в цитоплазмі, калій збільшує її обводнення, внаслідок чого вона набухає і набуває вигляду ковпачків, тобто відбувається *ковпачковий плазмоліз*.

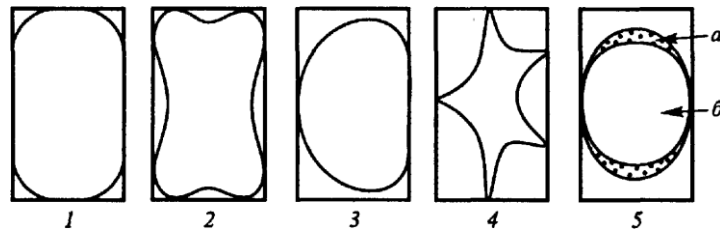


Рисунок 2.2 – Типи плазмолізу рослинних клітин: 1– початковий плазмоліз; 2 – ввігнутий плазмоліз; 3 – опуклий плазмоліз; 4 – судомний плазмоліз; 5 – ковпачковий плазмоліз (спостерігається набухання цитоплазми (а), що спричинюється різною проникністю деяких іонів (наприклад, калію) для плазмалемми та тонопласту вакуолі (б))

При порівнянні в'язкості цитоплазми в розчинах солей калію і кальцію можна відзначити, що іони калію, проникаючи в цитоплазму, підвищують її гідрофільність, зменшують в'язкість і сприяють її швидкому відриву від клітинної стінки. Тому в розчинах солей калію плазмоліз швидко приймає форму опуклого. Іони кальцію, навпаки, підвищують в'язкість цитоплазми, збільшують сили зчеплення її з клітинною стінкою, і плазмоліз приймає форму судомного плазмолізу.

Мета роботи. Ознайомитись з різною проникністю клітинної мембрани для різних речовин та з'ясувати причину цього явища.

Матеріали та обладнання. Цибуля біла та синя; 1М розчини сахарози і KNO_3 , 0,7М розчин CaNO_3 , 10 %-й гліцерин; пінцети, препарувальні голки, предметні і покривні скла, шматочки фільтрувального паперу, стаканчики з водою, піпетки, мікроскопи.

Хід роботи

1. На одне предметне скло наносять краплю 1М розчину нітрату калію, на друге – 1М розчин глюкози, на третє – 0,7 М розчин нітрату кальцію. В обидві краплі поміщають по шматочку епідерми цибулі, знятої з опуклої поверхні видозміненого листка цибулини, накривають покривними скельцями. Через 5–10 хв препарати розглядають під мікроскопом, відмічають різницю та роблять висновки.

2. Шматочки опуклого боку луски синьої цибулі розмістити на предметному склі в 10 % розчині гліцерину, накривити покривним склом і почати спостереження під мікроскопом, роблячи замальовки клітини кожні

три хвилини. Відзначити час настання повного плазмолізу, початку завершення деплазмолізу, пояснити причину обох явищ.

Контрольні питання

1. Перерахуйте види плазмолізу та причини їх виникнення.
2. Особливості виникнення ковпачкового плазмолізу.
3. Явища плазмолізу та деплазмолізу, зв'язок між ними.

3 ВОДНИЙ РЕЖИМ РОСЛИН

Лабораторна робота 10 Рух прорихів листка

Теоретичні відомості. Газообмін листка із зовнішньою атмосферою регулюється прорихами. Кожний прорих складається з двох замикаючих клітин, у яких стінки, що утворюють прорихову щілину, потовщені, тоді як зовнішні стінки є тонкими. Неоднакова товщина зовнішніх і внутрішніх стінок замикаючих клітин призводить до того, що при зростанні тургору зовнішні стінки здатні розтягуватись, що призводить до вигинання внутрішніх стінок, які відкривають або закривають при цьому прорихову щілину.

Мета роботи. Спостереження за рухами прорихів, викликане концентрованим (по відношенню до клітинного соку) розчином гліцерину.

Матеріали та обладнання. Листя традесканції; 5 %-й розчин гліцерину; пінцет; препарувальна голка; скляна паличка; мікроскоп; предметні скельця; стаканчик з водою; шматочки фільтрувального паперу.

Хід роботи

1. Знімають шматочок епідермісу традесканції за допомогою препарувальної голки, розміщують його в краплі 5 %-го розчину гліцерину на предметному склі, і відразу починають спостереження за прорихами під мікроскопом на малому збільшенні. Розчин гліцерину відсмоктує воду з усіх клітин епідермісу, тому спостерігають явище плазмолізу, в тому числі і в замикаючих клітинах. Прорихові щілини при цьому закриваються.

2. Через деякий час (хвилин через 15), внаслідок того що гліцерин починає проникати до цитоплазми через плазмалему, спостерігається деплазмоліз – і прорихи відкриваються. Далі слід замінити гліцерин водою, для чого його відтягують фільтрувальної папером, а потім наносять на предметне скло краплю води. При цьому прорихи відкриваються ще ширше, ніж на початку досліду, оскільки внаслідок проникнення гліцерину в клітинний сік

осмотичний тиск в замикаючих клітинах підвищується – і клітини сильно розбухають через всмоктування води.

Контрольні питання

1. Опишіть будову продихів та замикаючих клітин.
2. Поясніть причину розкриття та закриття продихів в лабораторних умовах при дії гліцерину та у живих рослин.

Лабораторна робота 11 Транспірація рослин. Визначення кількості продихів за допомогою відбитків

Теоретичні відомості. Транспірація – процес випаровування води надземними органами рослини. Транспірація рослин залежить від ступеня відкриття продихів листка. Різні систематичні групи рослин пристосовуються до регулювання рівня транспірації, розташовуючи більшість продихів з верхнього або нижнього боку листка. Це пов'язано з їхньою будовою та екологічними умовами, в яких вони зростають. В нижній частині листка більшу кількість продихів мають як більшість дводольних рослин. Їхнє листя переважно розташоване горизонтально, паралельно до земної поверхні, тому верхня частина листка краще освітлена, і менша кількість продихів в ній перешкоджає надмірному випаровуванню води. Такий вид листя, що має більшість продихів з нижнього боку листка, називається *гіпостоматичним*. У однодольних рослин кількість продихів у верхній і нижній частині може бути різною. Якщо листя однодольних рослин розташоване вертикально, то в цьому випадку кількість продихів на обох частинах листка може бути однаковою. Такий вид листків називається *амфістоматичним*. Також є різниця у розташуванні продихів у однодольних та дводольних, яка полягає в тому, що у однодольних продихи утворюють правильні паралельні ряди, тоді як у дводольних вони розташовуються безладно.

У плаваючих рослин на нижній частині листка продихи відсутні, а розташовані відповідно тільки на верхній частині. Такий вид листя

називається *епістоматичним*. У підводних рослин продихи на листках відсутні зовсім.

Продихи хвойних рослин зазвичай захищені глибоко під епідермісом, що дозволяє відчутно зменшити витрату води взимку на випаровування та влітку під час засухи.

Продихи також розрізняються за рівнем розташування відносно поверхні епідермісу. Деякі з них розташовані врівень з іншими епідермальними клітинами, інші підняті вище або занурені нижче поверхні.

Мета роботи. Провести кількісну оцінку деяких показників водообміну різних видів рослин.

Матеріали та обладнання. Пінцет; вода; мікроскоп; предметні та покривні скельця; безбарвний лак для нігтів; скотч; листки кімнатних рослин на вибір: бегонія, хлорофітум, сциндапус, цисус, пеларгонія, гілка сосни; розчин метиленового синього в воді або інший барвник; скляна колба або пляшка; чашка Петрі; лабораторні ваги; нитка; вазелін; вентилятор; ножиці.

Хід роботи

Дослід 1. Візуальне визначення різниці кількості продихів з нижнього та верхнього боку листків.

1. Між двома довільними опорами, розташованими на відстані 40–50 см одна від одної, натягнути нитку.

2. Взяти 4 листки кімнатної рослини з достатньо тонкою листковою пластинкою (напр., бегонія). На перший листок нанести вазелін з обох боків, на другий – з верхнього боку, на третій – з нижнього, четвертий залишити без змін.

3. Підвісити 4 дослідних листки на натягнуту нитку та залишити на 30–50 хв.

4. Як сплине час, порівняти стан листків та пов'язати ступінь в'янення листків з розташуванням переважної кількості продихів на листках дослідної рослини.

Дослід 2. Визначення кількості продихів методом відбитків.

1. На верхню та нижню поверхню листка дослідної рослини наклеїти шматочок скотчу, зверху та на прилеглу поверхню нанести тонким шаром безбарвний лак для нігтів та залишити на деякий час.

2. Після висихання лаку зняти скотч разом з лаком та верхнім шаром (епідермісом) листка з нижнього та верхнього боку. Помістити дослідні зразки (відбитки) на предметне скло у краплю води, накрити покривним скельцем та розглянути від мікроскопом.

3. Порахувати у 10 полях зору кількість продихів та знайти їхнє середнє число.

4. Розрахувати кількість продихів на 1 мм². Для цього необхідно визначити площу поля зору об'єктива мікроскопа.

Діаметр поля зору мікроскопа в площині, де знаходиться зразок, визначається за формулою (3.1):

$$D = \frac{d}{M \cdot Mt}, \quad (3.1)$$

де D – діаметр поля зору в площині розташування зразка, мм;

d – діаметр поля зору окуляра, тобто діаметр фіксованої діафрагми в окулярі в міліметрах; зазвичай він вигравіруваний на окулярі і іноді називається числом поля зору (від англ. *field of view number*);

M – збільшення об'єктива мікроскопа, зазначається на самому об'єктиві;

Mt – збільшення тубусної лінзи (якщо вона встановлена; тубусна лінза встановлюється в оптичному шляху мікроскопа між об'єктивом і окуляром для отримання проміжного дійсного зображення; як правило, дорівнює 1).

Наведені розрахунки є оціночними. Для визначення точного поля зору конкретного мікроскопа з конкретними об'єктивом і окуляром необхідно його відкалібрувати за допомогою калібрувального слайду.

Також можна скористатись готовими значеннями поля зору до відповідного збільшення мікроскопа ($8 \times 7 - D = 2,25$ мм, $S = 3,97$ мм²;

$8 \times 10 - D = 1,75 \text{ мм}$, $S = 2,40 \text{ мм}^2$; $8 \times 15 - D = 1 \text{ мм}$, $S = 0,785 \text{ мм}^2$;
 $40 \times 7 - D = 0,46 \text{ мм}$, $S = 0,158 \text{ мм}^2$; $40 \times 10 - D = 0,36 \text{ мм}$, $S = 0,098 \text{ мм}^2$;
 $40 \times 15 - D = 0,20 \text{ мм}$, $S = 0,0314 \text{ мм}^2$).

5. Порівняти отриману кількість продихів з верхньої та нижньої поверхні листка. Зазвичай кількість продихів знаходиться в межах 100–500 на 1 мм^2 .

Дослід 3. Водобмін гілки сосни

1. Наливають в пляшку, підфарбовану барвником, воду і зважують. Беруть гілку сосни, очищують нижню частину стебла від хвої, закріплюють в отворі пробки і оновлюють зріз під водою (різати навскіс гострим скальпелем на відстані 5–6 см від нижнього кінця). Протримавши свіжозрізаний кінець гілки під водою не менше 0,5 хв, вставляють пробку з гілкою в колбу, затуляють отвори ватою, замотують поліетиленом, щоб не було випаровування, і зважують колбу з гілкою. Результати зважування записують.

2. Через тиждень визначають масу колби з гілкою, потім виймають гілку зважують колбу з водою, що залишилася. Обривають хвою та зважують.

3. На підставі отриманих даних обчислюють такі показники: масу поглиненої гілкою води (за різницею маси води до та після експерименту); масу випаруваної води (за зменшенням маси установки); транспіруючу поверхню хвої, вважаючи, що 1 г сирої маси хвої сосни відповідає поверхні 33 см^2 .

4. Крім того, замальовують поперечний розріз стебла, звертаючи особливу увагу на те, яка частина його забарвилася. В кінці роботи необхідно зробити висновки про те, з якої частини стебла йде висхідний водний струм, чи збігається маса поглиненої та випаруваної води.

Контрольні питання

1. Чи значно відрізняється кількість продихів з нижнього боку та верхнього боку листка у рослин? Якщо так, з чим це пов'язано, на вашу думку?

2. В чому полягає методика визначення кількості продихів методом відбитків?

Лабораторна робота 12 Визначення показників транспірації та їх залежності від умов середовища

Теоретичні відомості. Транспірація, як і випаровування, – дифузний процес, тому визначається градієнтом водного потенціалу в системі «рослина-повітря». Транспірація як фізичний процес залежить від дефіциту насичення повітря водяними парами, температури, освітленості, вітру (руху повітря), а також величини і форми випаровуваної поверхні, яка визначається особливостями будови рослини.

Для визначення транспірації використовують її певну величину – інтенсивність транспірації.

Інтенсивність транспірації (далі – ІТ) – кількість води в г, що випарувалася з одиниці листової поверхні (1 м^2) в одиницю часу (1 година). Ця величина залежить від зовнішніх чинників, часу доби і коливається в межах $15\text{--}250 \text{ г/м}^2 \cdot \text{год}$.

Основним методом визначення ІТ є ваговий метод, заснований на обліку втрати води при випаровуванні.

Відносна транспірація (далі – ВТ) – відношення інтенсивності транспірації до інтенсивності випаровування з відкритої водної поверхні за тих же умов. Цей показник характеризує здатність рослин регулювати процес транспірації. Відносна транспірація виражається значеннями від 0,1 до 0,5, піднімаючись іноді до 1,0 і опускаючись у деяких добре захищених від втрат води листя до 0,01 і нижче.

Мета роботи. Опанувати методику визначення інтенсивності транспірації та відносною транспірації рослин залежно від умов середовища.

Матеріали та обладнання. Листя пеларгонії з черешками; електронні ваги; квадрат кальки розміром $10 \text{ см} \times 10 \text{ см}$ (2 шт.); вентилятор; лампа; темна шафа; волога камера; ножиці; лезо; вата; вода, колба конічна на $50\text{--}100 \text{ мл}$;

ексикатор; скляна пластинка; лінійка; калькулятор; половинка чашки Петрі; програмний додаток IpSquare v5.0 (безкоштовна пробна версія).

Хід роботи

Студенти розділяються на групи, кожна група вивчає транспірацію за умови впливу певного зовнішнього фактору, потім групи обмінюються результатами. Для цього створюються різні модельні умови досвіду: при вивченні впливу вітру помістити листя рослини і чашку Петрі з водою на рівну відстань від вентилятора під струмінь теплого повітря. Якщо вивчається такий фактор, як яскраве світло, використовується електролампа (100 Вт); темрява – темна шафа, підвищену вологість можна змоделювати, помістивши рослину у вологу камеру.

1. Щоб викликати відкривання продохів, перед досвідом рослини необхідно рясно полити і протягом 1,5–2 годин освітлювати електролампюю.

2. У чашці Петрі без кришки виміряти діаметр (по внутрішній поверхні) і наповнити її дистильованою водою таким чином, щоб дно було повністю закрито. Зважити на електронних вагах.

3. У конічну колбу до половини налити дистильованої води.

4. З герані зрізати лист разом з черешком і обвести його контур на кальці (Обережно, щоб не пошкодити лист!). Можна провести цю процедуру після досліду, у такому випадку пошкоджене ненароком листя вже не вплине на результати обчислень.

5. Нижній кінець черешка підрізати під водою приблизно на 1 см для відновлення водних «ниток» в провідних судинах.

6. Лист за допомогою вати закріпити в конічній колбі. Листова пластинка не повинна бути мокрою!

7. Колбу з листом зважити.

8. Лист в колбі і чашку Петрі без кришки поставити в однакові умови на 40–60 хв.

9. Через 40–60 хв колбу з листом і чашку Петрі повторно зважити. Зменшення маси в першому випадку показує кількість води, що випарувалася з поверхні листа (транспірація), у другому – з відкритої водної поверхні.

10. Паралельно можна проводити спостереження за зрізаними листями. Зрізають лист, беруть його пінцетом, зважують. Через 5 хв після зважування першого листа повторно зважують всі листя в першопочатковому порядку. Різниця в масі листя за час між першим і другим зважуваннями показує, скільки води випарувалося за цей період. Всі розрахунки виконують по сумарній площі всього листя.

11. Визначають площу листків за допомогою програми IpSquare v5.0 або використовують ваговий метод. Вирізають з кальки квадрат в 100 см² (10×10 см) і зважують на електронних вагах. Потім вирізають контур листа з кальки і також зважують. За пропорцією знаходять **площу контуру** (листка), формула (3.2):

$$S = \frac{100 \cdot B}{A}, \quad (3.2)$$

де S – площа листка, см²;

A – вага кальки розміром 100 см²;

B – вага контуру листка, г.

12. На основі отриманих даних розрахувати інтенсивність транспірації, інтенсивність випаровування з вільної водної поверхні, відносну транспірацію.

Інтенсивність транспірації розраховується за формулою (3.3):

$$IT = \frac{10\,000 \cdot C \cdot 60}{S \cdot T}, \quad (3.3)$$

де IT – інтенсивність транспірації, г/м²·год.

C – зменшення у масі під час дослід, г;

S – площа листка, см²;

T – тривалість дослід, хв;

10 000 – коефіцієнт переведення см² у м²;

60 – коефіцієнт переводу хвилин у години.

Інтенсивність випаровування (E) вільної водної поверхні склянки Петрі розраховується за тією ж формулою (3.4):

$$E = \frac{10\,000 \cdot C_1 \cdot 60}{S_1 \cdot T}, \quad (3.4)$$

де C_1 – зменшення у масі склянки Петрі, г;

S_1 – це площа відкритої поверхні (см²), яку знаходять, як площу круга, яка дорівнює πr^2 ($\pi = 3,14$).

Відносну транспірацію знаходять за формулою (3.5):

$$BT = \frac{IT}{E}, \quad (3.5)$$

13. Заповнити таблицю 3.1. Обмінятися результатами. Заповнити таблицю 3.2.

14. Зробити висновки про вплив зовнішніх умов на інтенсивність транспірації, проаналізувати і порівняти показники інтенсивності транспірації і інтенсивності випаровування з відкритої поверхні для однакових умов середовища.

15. За даними лабораторної роботи 11 визначити інтенсивність транспірації сосни звичайної.

Таблиця 3.1 – Показники дослідів

№ з/п	Показник	Значення
1	Вага колби с листком перед дослідом, г	
2	Вага колби с листком після досліду, г	
3	Втрата води листком за час досліду, г	
4	Вага колби чашки Петрі перед дослідом, г	
5	Вага чашки Петрі після досліду, г	
6	Діаметр чашки Петрі, см	
7	Втрата води із чашки Петрі за час досліду, г	
8	Площа чашки Петрі, см ²	
9	Вага 100 см ² кальки, г	
10	Інтенсивність випаровування з вільної водної поверхні (E), г/м ² ·год	
11	Вага контуру листка, г	
12	Площа листка, см ²	
13	Час досліду, хв	

Таблиця 3.2 – Показники транспірації за різних умов досліду

№ з/п	Умови досліду	ІТ, г/м ² ·год	ВТ
1	Звичайні умови (кімнатні)		
2	Підвищена вологість повітря		
3	Темрява		
4	Інтенсивне світло		
5	Вітер		

Контрольні питання

1. Що таке транспірація та її біологічне значення.
2. Які показники використовуються для характеристики транспірації?
3. Які існують способи регуляції транспірації?
4. Яким чином транспірація залежить від внутрішніх та зовнішніх факторів?

4 КОРЕНЕВЕ ЖИВЛЕННЯ РОСЛИН

Лабораторна робота 13 Фізіологічна реакція солей

Теоретичні відомості. Кореневі системи рослин здатні поглинати катіони і аніони вибірково, тобто не в тому співвідношенні, в якому вони знаходяться в живильному розчині. При цьому відбувається зміна рН середовища. Якщо з розчинів солей рослина поглинає більше катіонів, а аніони накопичуються в середовищі, то рН розчину зміщується в кислу сторону. Така сіль називається фізіологічно кислою. Фізіологічно лужною сіллю називається така сіль, з розчину якої коріння бере аніони, а катіони накопичуються в середовищі і підлужують її. Фізіологічну реакцію солей необхідно враховувати при вирощуванні рослин на штучних поживних сумішах і внесенні добрив в польових умовах. В останньому випадку треба знати реакцію ґрунтового розчину.

Мета роботи. Встановити фізіологічну реакцію солей.

Матеріали та обладнання. Штатив; пробірки 3 шт.; індикаторний папір; 0,1 М розчини $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, NH_4NO_3 і NaNO_3 ; 10-денні проростки будь-яких зернових культур.

Хід роботи

У пробірки на 2/3 їх об'єму наливають 0,1 М розчинів $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, NH_4NO_3 і NaNO_3 . За допомогою індикаторного паперу визначають рН розчинів. Потім в розчини розміщують 6–8 проростків зернових культур. Через 2–2,5 год знову визначають значення рН досліджуваних розчинів і роблять висновок про фізіологічну реакцію солей. Результати досліду записують в таблицю 4.1.

Таблиця 4.1 – Результати дослідження фізіологічної реакції солей

Розчини солей	Вихідне значення рН	Кінцеве значення рН	Фізіологічна реакція солей
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$			
NH_4NO_3			
NaNO_3			

Контрольні питання

1. Які мінеральні солі називають фізіологічно кислими та фізіологічно лужними?
2. Яким чином розуміння фізіологічної реакції солей може бути корисним?
3. Які ви можете зробити висновки на основі отриманих результатів лабораторної роботи?

Лабораторна робота 14 Живильні розчини та гідропоніка

Теоретичні відомості. Тільки у 19 ст. вчені експериментально довели, що рослини використовують неорганічні речовини для фотосинтезу (Дж. Прістлі) та кореневого живлення (Ю. Лібіх). В 50–60 роках 19 ст. два німецьких вчених, Дж. Сакс і В. Кноп стандартизують формулу поживних речовин, яка дозволяє вирощувати рослини без ґрунту (метод водних культур). Завдяки їхнім дослідженням стало зрозуміло, які саме хімічні елементи рослини використовують для свого росту і розвитку. Поживний розчин Кнопа викотується і до цього дня.

Новий світ не відставав від Старого в роботі із вивчення живлення рослин. На початку ХХ століття американський вчений на ім'я Вільям Герікке став засновником *теорії гідропоніки*. Він без ґрунту вирощував овочі в спеціальних ємкостях, які були заповнені поживним розчином.

За часів Радянського Союзу, приблизно в один і той же час з американським вченим Генрікке, радянські вчені Д. Прянишников і К. Тімірязєв вирощували рослини в хімічних розчинах.

Метод водних культур використовують для підбору оптимального співвідношення мінеральних солей під час вегетаційних дослідів перед вирощуванням тієї чи іншої культури на великих площах. Цей метод передбачає створення живильних розчинів (сумішей). Нормальний живильний розчин містить всі необхідні для життєдіяльності рослин мінеральні солі. До складу нормального живильного розчину як правило входять такі сім елементів: азот, фосфор, калій, сірка, кальцій, магній, залізо. Вимоги до створення живильних розчинів полягають у тому, що вони повинні містити необхідні елементи в доступній катіонній (головним чином, метали) та аніонній (неметали) формах в оптимальному співвідношенні. Дуже важливим тут фактором є рН середовища. Оскільки в міру споживання мінеральних солей, співвідношення аніонного і катіонного складу змінюється, то, відповідно, може змінитися і рН середовища. Тому слід намагатися підібрати суміші таким чином, щоб рН середовища залишалось більш-менш незмінним.

Мета роботи. Познайомитись зі складом двох типів живильних сумішей, приготувати розчин Д. М. Прянишникова, виростити розсаду для подальших лабораторних робіт.

Матеріали та обладнання. Дистильована вода; хлорид калію KCl; сульфат магнію $MgSO_4 \cdot 7H_2O$; хлорид заліза $FeCl_3$; сульфат кальцію $CaSO_4$; нітрат амонію NH_4NO_3 ; мірні циліндри і колби; аналітичні ваги; посуд для зберігання вихідних розчинів; піпетки.

Хід роботи

1. Для вирощування водних культур використовують різні живильні суміші. Познайомитись та порівняти дві з них: розчин У. Кнопа та Д. Прянишникова (табл. 4.2).

Основний недолік розчину У. Кнопа – це зміна рН середовища в лужний бік, в той час як розчин Д. Прянишникова цього недоліку позбавлений.

2. Приготувати повний живильний розчин Д. Прянишникова. Для цього зазначену масу наважок слід розчинити в дистильованій воді та довести до об'єму 1 л.

3. Розрахувати необхідні співвідношення та приготувати неповний живильний розчин Д. Прянишникова, тобто із вилученням одного мінерального елементу: азоту, фосфору чи калію.

4. Для вилучення азоту в розчин просто не додаємо нітрат амонію.

5. Щоб приготувати живильний розчин без фосфору потрібно замінити фосфат кальцію двозаміщений $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ на сульфат кальцію, щоб зберегти таку саму кількість кальцію в розчині.

6. Розрахуємо молярну масу кальцію в $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Молярна маса $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ складає 358,18 г/моль. Молярна маса кальцію – 40,0 г/моль. Тоді в 0,172 г $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ маса кальцію за пропорцією складе 0,019 г/моль. Тепер розрахуємо необхідну кількість сульфату кальцію із вмістом 0,019 г/моль кальцію. Знаючи молярну масу сульфату кальцію 136 г/моль, дізнаємось необхідну масу наважки CaSO_4 , склавши пропорцію. Отримуємо результат – 0,065 г CaSO_4 .

7. Щоб приготувати живильний розчин без калію, хлорид калію KCl замінюємо на хлорид натрію NaCl та проводимо відповідні розрахунки, щоб визначити його необхідну масу, враховуючи, що молярна маса KCl – 74,56 г/моль; NaCl – 58,46 г/моль. Наважка NaCl має скласти 0,115 г.

Таблиця 4.2 – Склад живильних сумішей У. Кнопа та Д. Прянишникова

Розчин У. Кнопа. Реактив (наважка, г)	Розчин Д. Прянишникова. Реактив (наважка, г)
Нітрат кальцію $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ (1,00)	–
Хлорид калію KCl (0,125)	Хлорид калію KCl (0,150)
Сульфат магнію $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,250)	Сульфат магнію $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,060)
Фосфат калію KH_2PO_4 (0,250)	–
Хлорид заліза FeCl_3 (кілька кристалів)	Хлорид заліза FeCl_3 (0,025)
–	Нітрат амонію NH_4NO_3 (0,240)
–	Фосфат кальцію двозаміщений $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0,172)
–	Сульфат кальцію CaSO_4 (0,334)

Контрольні питання

1. Що таке водні культури та навіщо їх використовують?

2. Дайте визначення нормального живильного розчину.
3. Які вимоги існують до підбору живильних сумішей?

Лабораторна робота 15 Ознаки мінерального голодування у рослин

Теоретичні відомості. Основні хімічні елементи: азот, фосфор, калій, – є дуже важливими для формування вегетативної маси, цвітіння та інших фізіологічних функцій рослин. За допомогою методу водних культур, вилучаючи один елемент, можна прослідкувати, який ефект матиме його нестача.

Слід зазначити основні ознаки мінерального голодування рослин у випадку нестачі цих трьох елементів.

Азотне голодування рослин перш за все характеризується зміною зеленого забарвлення листя. Азот входить до складу хлорофілу. Коли рослина починає відчувати брак в азоті, то утворення хлорофілу слабшає і листя набувають блідо-зеленого забарвлення. Іншою характерною ознакою азотного голодування рослин є сильна затримка в рості.

Азотні добрива найбільше впливають на зміну рН розчину, бо саме їх рослина поглинає найбільше. Крім того, коренева система здатна активно змінювати рН розчину, постійно виділяючи йони H^+ , органічні кислоти, а також клітинні стінки мають йонообмінні властивості.

Першою ознакою **калійного голодування** – це темно-зелене, з блакитним відтінком забарвлення листя. В цей час в них накопичується багато азоту, який сприяє посиленому утворенню хлорофілу. При нестачі калію в клітинах рослин накопичується аміачний азот через слабку його переробку в амінокислоти. Накопичення аміаку токсично діє на рослину і викликає відмирання тканин. Відмирання відбувається від зневоднення тканин. Цьому процесу передують пожовтіння. Пожовтіння і відмирання тканин починається з верхівки листа і поширюється вниз по краях, а потім між жилками. Крайовий «опік», або «запал» листя є характерною ознакою калійного голодування.

Фосфорне голодування: листя спочатку набувають тьмяного темно-зеленого кольору, який переходить у фіолетовий, а вздовж прожилок з нижнього боку – пурпуровий. При засиханні листя чорніють, а не жовтіють, як зазвичай.

Мета роботи. Познайомитись з ознаками мінерального живлення рослин та дослідити ознаки голодування на азот, фосфор та калій у водних культур, вирощених в ході попередньої лабораторної роботи на суміші Д. Прянишникова.

Матеріали та обладнання. Повна та неповні живильні суміші на основі розчину Д. Прянишникова, отримані в попередній лабораторній роботі; насіння різних рослин; посуд для вирощування розсади на водних розчинах; гумові груші для продування повітря; індикаторний папір.

Хід роботи

1. Насіння рослин замочити в воді для пророщування до утворення корінців.
2. Життєздатні проростки розмістити на пластинках у посуді для вирощування розсади таким чином, щоб корінці були занурені в живильний розчин.
3. Закласти 5 дослідів: пророщування розсади на дистильованій воді (1), на повному (2) та неповних живильних розчинах Д. Прянишникова з вилученням азоту (3), фосфору (4), калію (5).
4. Рівень рідини в посудинах тримати на одному рівні, продувати повітрям кожного дня та змінювати розчин кожного тижня на щойно приготований.
5. Періодично вимірювати рН живильних сумішей (оптимальне значення знаходиться в межах 5,5–6,5) і підкислювати лимонною або оцтовою кислотою та підлугувувати їдким натром при потребі. Зробити висновки про здатність кореневої системи змінювати рН живильного розчину.

6. Порівняти біометричні показники пророщених рослин: масу рослини, довжину коріння, висоту наземної частини, довжину та ширину листя, зовнішній вигляд рослини та занести результати в таблицю 4.3.

7. На основі навчальної анімації, яка є у вільному доступі² зробити висновки про зовнішні ознаки голодування та замалювати їх.

Таблиця 4.3 – Біометричні показники пророщених рослин на різних субстратах

Біометричні показники	Типи живильних субстратів				
	Дистильована вода	Повний живильний розчин	Живильний розчин без азоту	Живильний розчин без фосфору	Живильний розчин без калію
Маса рослини					
Висота наземної частини					
Довжина кореня					
Довжина листя					
Ширина листя					
Зовнішній вигляд рослини					

Контрольні питання

1. Який рівень рН є оптимальним для ґрунтового розчину?
2. Які види солей використано у розчині Д. Прянишникова (фізіологічно лужні, кислі)? Чи впливає коренева система на рН живильного розчину?
3. Опишіть ознаки мінерального голодування на прикладі дефіциту азоту, калію, фосфору, заліза, магнію, кальцію.

² URL: <http://www.kscience.co.uk/animations/minerals.htm>

Лабораторна робота 16 Антагонізм іонів та його вплив на ріст і розвиток рослин

Теоретичні відомості. Розрізняють як синергічну, так і антагоністичну взаємодію іонів солей, які мають відповідний вплив на мінеральне живлення рослин та їх ріст і розвиток. В першому випадку присутність одного іону підсилює засвоєння іншого, що має позитивний ефект на розвиток рослин, більше, ніж кожен іон окремо. В другому випадку, навпаки, одночасна присутність двох іонів в живильному субстраті погіршує їх засвоєння рослиною, що може як негативно, так і позитивно відобразитись на ростових процесах рослини.

Фізіологічно врівноваженими є ті розчини, кількість і співвідношення іонів в яких виключають їх шкідливий вплив.

Взаємодія іонів в живильних субстратах пояснюється особливостями поглинання їх корінням рослин, а саме конкуренцією за місця абсорбції, іонні канали та білки переносники.

Антагонізм іонів проявляється як між різними іонами однієї валентності, наприклад Na^+ і K^+ , I^+ і NH_4^+ , так і між іонами різної валентності (K^+ і Ca^{2+} , Na^+ і Mg^{2+}). Явище антагонізму залежить від валентності іонів: чим вища валентність, тим в меншій концентрації проявляється антагоністична дія.

Для нормальної життєдіяльності рослин має бути певне співвідношення різних іонів в навколишньому середовищі. Чисті розчини одного будь-якого катіона виявляються отруйними. Так, при переміщенні проростків пшениці на чисті розчини KCl або CaCl_2 на коренях спочатку з'являються здуття, а потім коріння відмирає. Змішані розчини цих солей не мають такої токсичної дії. Однією з причин антагонізму іонів є їх вплив на гідратацію білків цитоплазми. Двовалентні катіони (кальцій, магній) дегітртують колоїди сильніше, ніж одновалентні (натрій, калій). Наступною причиною антагонізму іонів є їх конкуренція за активні центри ферментів. Так, активність деяких ферментів

дихання знижується під дією іонів натрію, але їх дія знімається додаванням іонів калію.

Мета роботи. З'ясувати вплив чистих та змішаних розчинів солей на процеси життєдіяльності рослин.

Матеріали та обладнання. Проростки пшениці; розчини KCl (9 г/л) і CaCl₂ (6,7 г/л), дистильована вода; посуд для вирощування водної культури пшениці; пінцети; лінійки.

Хід роботи

1. Висадити по 10 проростків пшениці в посуд для розсади та пронумерувати.

2. У перший посуд налити 200 мл CaCl₂, у другий – 200 мл KCl, у третю – 100 мл KCl і 100 мл CaCl₂.

3. Через тиждень у всіх проростків виміряти довжину кореня та надземної частини, відзначити різницю у зовнішньому вигляді. Розрахувати середнє значення цих біометричних показників в кожній посудині, занести в таблицю 4.4 та зробити висновки.

Таблиця 4.4 – Вплив йонів K⁺ і Ca²⁺ на морфометричні показники проростків рослин

Склад розчину	Середня довжина коренів, см	Середня довжина наземної частини, см
KCl		
CaCl ₂		
KCl+CaCl ₂		

Контрольні питання

1. В чому полягає синергізм та антагонізм іонів у мінеральному живленні рослин?

2. Що таке фізіологічно врівноважений розчин?

3. Який вплив спричинили чисті розчини на ріст рослин, а який вплив змішаний розчин KCl+CaCl₂?

5 ФОТОСИНТЕЗ

Лабораторна робота 17 Хімічні властивості пігментів рослин

Теоретичні відомості. В мембранах хлоропластів фотоавтотрофів є комплекс різних пігментів, що беруть безпосередню участь у фотосинтезі: хлорофіли, каротиноїди та фікобіліни.

Структурною основою молекули хлорофілу є порфіринове кільце, в центрі якого розташований атом магнію. Циклічна система подвійних зв'язків та атом магнію визначають фотохімічну активність пігменту.

За хімічною природою *хлорофіли* є складними ефірами (естерами) дикарбонової кислоти хлорофіліну ($MgN_4OH_{32}C_{32}-2COOH$), у якого одна карбоксильна група етерифікована метильною групою $-CH_3$ (хл. «а»), або формільною $-CHO$ (хл. «б»), а друга – залишком спирту фітолу: $COOCH_3$.

Каротиноїди (жовті, оранжеві, червоні пігменти) включають близько 400 пігментів, які відносяться до трьох груп:

- каротини (оранжеві, червоні) мають загальну формулу $C_{40}H_{56}$;
- ксантофіли (жовті) являють собою продукти окиснення каротинів – $C_{40}H_{56}O_6$;
- каротинові кислоти – $C_{20}H_{24}O_4$.

Основним функціональним пігментом, що здійснює фотосинтетичну роботу, є хлорофіл а. Інші пігменти є допоміжними, вони передають поглинену енергію сонця хлорофілу а, підвищуючи там самим коефіцієнт використання енергії світла.

Мета роботи. Познайомитись зі складом та деякими фізико-хімічними властивостями основних пігментів зеленої рослини.

Матеріали та обладнання. Свіже листя кропу або петрушки; 96 %-й етиловий спирт; бензин (уайтспірит); 20 %-й розчин NaOH; 10 %-й розчин

НСІ, ацетат міді; пробірки та штатив для них; настільна лампа; сухий спирт або пальник.

Хід роботи

Одержання спиртового розчину пігментів.

1. Зелене листя дрібно нарізати і добре розтерти в фарфоровій ступці з невеликою кількістю кварцового піску і 8 мл спирту. Для нейтралізації органічних кислот в розтерту зелену масу додати 0,5 г крейди. Розтерти листя до гомогенного стану. В отриману масу вилити спирт, що залишився і дати відстоятися.

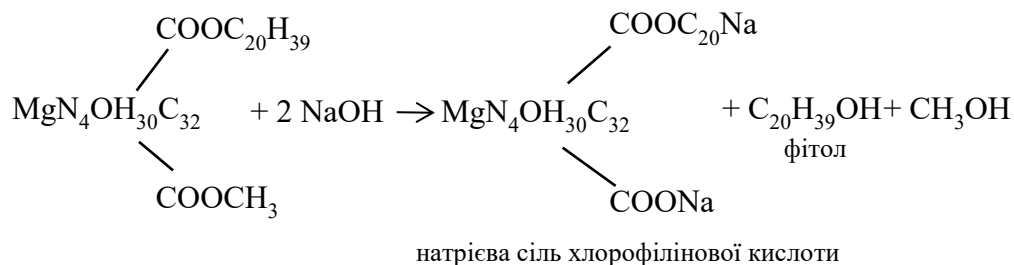
2. Одержану спиртову витяжку профільтрувати в пробірку через сухий складчастий фільтр. Отримують витяжку у вигляді прозорої смарагдової рідини.

Пряме та зворотне розділення пігментів по Краусу.

1. Метод базується на різній розчинності пігментів в спирті та бензині. Каротин та хлорофіл краще розчинні у бензині, ніж у спирті, ксантофіл в бензині майже нерозчинний.

2. В пробірку наливають 2–3 мл спиртової витяжки пігментів, до неї додають такий самий об'єм бензину та струшують, спостерігають забарвлення бензинового шару в зелений колір. Студенти замальовують та роблять висновки про причину такого розділення пігментів.

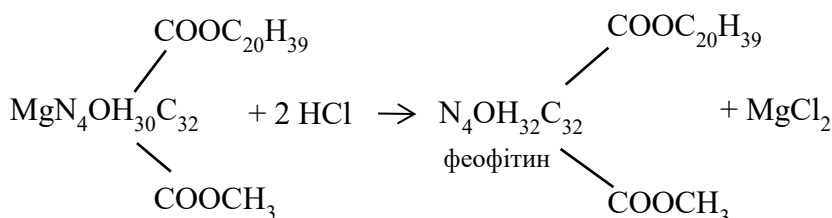
3. До пробірки, де проводилась пряме розділення пігментів, додають 1–2 мл 20 %-го розчину NaOH, закривають пробірку та добре струшують, можна додати краплю води для кращого розділення, дають відстоятися. Студенти замальовують результат реакції. Серед всіх пігментів саме хлорофіл може реагувати з лугами в реакції омилення, утворюється натрієва сіль хлорофілінової кислоти, яка зберігає зелене забарвлення і оптичні властивості хлорофілу, але відрізняється більшою гідрофільністю і розчинністю в спирті порівняно з незмінним хлорофілом.



Отримання феофітину та зворотне заміщення водню атомом металу.

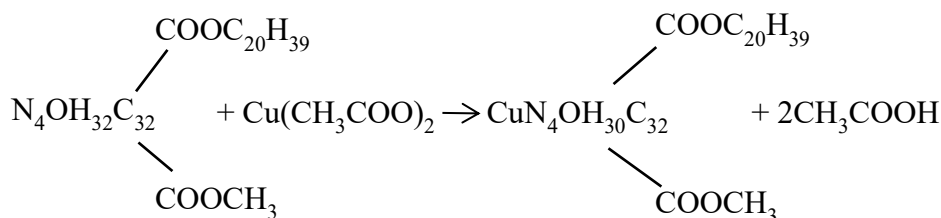
1. Атом магнію відносно слабо утримується в порфіриновому ядрі хлорофілу та при дії сильних кислот легко заміщується двома протонами, що призводить до утворення феофітину бурого кольору.

2. До спиртової витяжки хлорофілу додати 2 краплі 10 %-го розчину HCl, спостерігати втрату зеленого кольору через утворення феофітину.



3. Якщо на феофітин подіяти солями міді, цинку чи ртуті, то замість двох протонів в ядро входить відповідний метал і знову відновлюється зелений колір, оскільки відновлюється металорганічний зв'язок в молекулі. Проте розчин вже набуває брудно-зеленого кольору.

4. В пробірку з феофітином додати декілька кристалів ацетату міді та нагріти вміст до кипіння. Рід дією температури утворюється хлорофілподібна речовина із атомом міді.



Контрольні питання

1. В чому полягає пряме та зворотне розділення пігментів по Краусу?
2. Опишіть реакцію омилення хлорофілу.
3. Опишіть реакцію утворення феофітину.

Лабораторна робота 18 Розділення пігментів методом паперової хроматографії

Теоретичні відомості. *Хроматографія* – це метод розділення і аналізу сумішей речовин, заснований на різному розподілі речовин між двома фазами: рухомою і нерухомою.

Рухома фаза – це потік рідини або газу, що проходить через нерухома фазу і переносить речовину.

Нерухома фаза – як правило тверда речовина або, рідше, рідина, здатні взаємодіяти з речовиною. При цьому чим краще речовина сорбується (поглинається) нерухомою фазою, тим менше швидкість її руху.

Процес поділу ґрунтується на різній спорідненості досліджуваних сполук до рухомої і нерухомої фаз: речовини рухаються до «фінішу» з різними швидкостями і, таким чином, розділяються.

В основі методу паперової хроматографії лежить різний ступінь адсорбції пігментів нерухомою фазою, якою служить клітковина у вигляді фільтрувального паперу.

Мета роботи. Познайомитись з методом паперової хроматографії та застосувати її для розділення пігментів зі спиртової витяжки листа рослин.

Матеріали та обладнання. Свіже листя кропу або петрушки; 96 %-й етиловий спирт; бензин (уайтспірит); папір; лабораторна склянка (400–500 мл); олівець; нитка.

Хід роботи

1. Приготувати спиртову витяжку рослинних пігментів, як вказано в лабораторній роботі 17.

2. Приготувати смугу фільтрувального паперу, який можна використати в хроматографічній камері. Хроматографічна камера в нашому випадку – це смуга паперу, зачеплена за нитку, натягнуту над лабораторною склянкою, на дні якої налитий уайтспірит, що виступає рухомою фазою.

3. В нижній частині фільтрувального паперу наносять піпеткою поперечні смуги спиртової витяжки, висушують та повторюють разів процедуру разів 10. Потім смужку фільтрувального паперу занурюють нижнім кінцем в уайтспірит, а склянку накривають папером.

4. Розчин пігментів буде підніматися по смужці, причому пігменти, більш сильно адсорбовані клітковиною та менш розчинні в уайтспіриті, залишаться в нижній частині смужки, а ті, що менше адсорбуються та краще розчинні в рухомій фазі – піднімуться вище.

5. Поділ в хроматографічній камері закінчиться, коли над кольоровими смужками з'явиться безбарвна зона. Стабільно добре пігменти розділяються таким чином, починаючи від старту: хлорофіл b, хлорофіл a, ксантофіл та каротин. Інколи біля старту можна помітити жовту смугу пігменту лютеїну.

6. Границі розподілення пігментів слід замалювати олівцем, щоб їх зафіксувати, оскільки з часом вони вицвітають.

7. Замалювати отриману хроматографічну картину. Описати розподіл пігментів на паперовому сорбенті та пояснити причину такого розподілу.

Контрольні питання

1. В чому полягає метод хроматографії, зокрема паперової хроматографії.

2. Поясніть, яким чином рослинні пігменти розподіляються на сорбенті та чому.

Лабораторна робота 19 Антоціани та рН середовища

Теоретичні відомості. Сьогодні досить добре вивчені такі рослинні пігменти, як флавоноїди, каротиноїди і беталаїни. Всім відомі каротиноїди моркви, а до беталаїнів відносяться, наприклад, пігменти буряків. Група флавоноїдних сполук вносить найбільший вклад в різноманітність відтінків

кольорів у рослин. До даної групи належать жовті аурони, халкони і флавоноли, а також антоціани.

Антоціани (від грец. anthos – колір і kyanos – лазуровий) – це одні з найбільш поширених пігментів в рослинному царстві. Вони утворюються в процесах гідролізу крохмалю і за своїм походженням є безазотними сполуками, близькими до глікозидів – сполук цукрів з неуглеводною частиною.

Забарвлення рослин під дією антоціанів змінюється від зелених до червоних і синіх кольорів. Антоціани добре розчинні у воді і присутні в соці вакуолей. Діапазон кольорів змінюється завдяки наявності в рослинах в основному трьох моделей антоціанів, що різняться числом гідроксильних груп: пеларгонідин (червоний), ціанідин (фіолетовий) і дельфінідин (синій). Також є безбарвні флаваноїди – лейкоантоціани, які в кислому середовищі перетворюються в катехіни і антоціани.

Залежно від кислотності (рН) середовища соку вакуолей, антоціани надають того чи іншого забарвлення. У кислому середовищі вони зазвичай мають червоні тони, наприклад, у герані, гортензії, фіалок. У лужному – набувають синьо-блакитного забарвлення, при більш концентрованому розчині луку колір перейде в жовто-зелений. Якщо ж до синього або фіолетового розчину антоціанів додати кислоту, розчин знову стане рожевим. Дослідним шляхом це легко перевірити на рослинах, підбираючи в якості підживлення ті чи інші солі, що змінюють кислотність клітинного соку.

Мета роботи. З'ясувати вплив рН середовища на забарвлення антоціанів.

Матеріали та обладнання. 13 %-й розчин соляної кислоти HCl; водн. р-н. оцтової кислоти (9 %-й) CH₃COOH; водн. р-н. вугільної кислоти H₂CO₃; ВВЧК (Водна Витяжка листя Червоної Капусти); 2М водн. р-н. гідрокарбонату натрію NaHCO₃; водн. р-н. гідроксиду амонію (25 %-й) NH₄OH; водн. р-н. гідроксиду натрію NaOH (25 %-й); лабораторні склянки.

Хід роботи

1. Приготувати водну витяжку антоціанів з листя червоної капусти. Для цього листя капусти залити окропом і дати відстоятися 15 хвилин. Отриману витяжку розлити по склянках та виставити їх в ряд.
2. Приготовані реагенти, починаючи від того, що дає найбільш кислу реакцію, та закінчуючи найбільш лужним, по черзі додавати в кожную склянку окремо.
3. Виміряти рН середовища в кожній склянці за допомогою індикаторного папірця.
4. Спостерігати за зміною забарвлення розчину залежно від рН середовища та заносити результати в таблицю 5.1.

Таблиця 5.1 – Вплив рН середовища на забарвлення антоціанів

Хімічний реагент	Значення рН	Колір ВВЧК
13 %-й розчин соляної кислоти HCl		
водн. р-н. оцтової кислоти (9 %-й) CH ₃ COOH		
водн. р-н. вугільної кислоти H ₂ CO ₃		
ВВЧК		
2М водн. р-н. гідрокарбонату натрію NaHCO ₃		
водн. р-н. гідроксиду амонію (25 %-й) NH ₄ OH		
водн. р-н. гідроксиду натрію NaOH (25 %-й)		

Контрольні питання

1. Хімічна природа антоціанів та їх різноманіття.
2. Яких забарвлень рослинам надають різні види антоціанів?
3. Яким чином змінюється забарвлення антоціанів залежно від рН середовища?

Лабораторна робота 20 Оптичні властивості пігментів фотосинтезу

Теоретичні відомості. Пігменти пластид поглинають видиме світло в діапазоні 380–720 нм вибірково, тобто різні ділянки спектру поглинаються з різною інтенсивністю. Хлорофіли, основні фотосинтезуючі пігменти, поглинають світло в синій (430–450 нм) та червоній (640–683 нм) частинах спектра та відбивають спектр в його зеленій частині. Каротиноїди та ксантофіли поглинають світло в синій та фіолетовій частинах спектра (380–500 нм) та в незначній мірі в зеленій.

Хлорофіл, поглинаючи квант світла, переходить в «збуджений» стан. Якщо поглинена енергія не використовується на фотохімічні реакції, то молекула хлорофілу повертається на колишній енергетичний рівень, втрачаючи енергію у вигляді тепла або світла. Останнім явище отримало назву флуоресценції.

Флуоресценція – це світіння речовин при поглинанні ними світла. Флуоресценція хлорофілу служить ознакою його фотохімічної активності. У темряві молекула знаходиться в основному стані з найбільш низьким енергетичним рівнем валентних електронів. При поглинанні кванта світла один з електронів молекули хлорофілу переходить на більш високий енергетичний рівень, в результаті чого виникає електронно-збуджений стан молекули. При поверненні із збудженого стану в основний, енергія електронів може витратитися на: фотохімічну роботу, збудження сусідніх молекул хлорофілу, втрату у вигляді тепла, флуоресцентне випромінювання. Незалежно від довжини хвилі збуджувачого світла, спектр флуоресценції хлорофілу має максимум 670 нм (червона частина спектра). Флуоресціюють тільки хлорофіл а і хлорофіл b. Хлорофіл сильно флуоресціює в розчинах і набагато слабше – в листку, що пояснюється щільною упаковкою молекул в тилакоїдах і використанням поглиненої енергії в фотохімічних реакціях.

Мета роботи. Виявити, які спектри світла поглинаються різними пігментами; спостереження за флуоресценцією хлорофілу.

Матеріали та обладнання. Спиртова витяжка пігментів рослин різної концентрації (1:1; 1:5; 1:10); 2) розчини каротину (бензинова витяжка кореня моркви) і ксантофілу (отриманий розділенням пігментів по Краусу); спектроскоп; настільна лампа; кольорові олівці; чорний папір.

Хід роботи

Спектри поглинання пігментів

1. Кожен пігмент має свій певний спектр поглинання. У цьому можна переконатися, розглядаючи витяжки пігментів в спектроскоп. Спектроскоп студенти можуть виготовити заздалегідь за готовим кресленням³. Якщо на шляху світлового потоку помістити розчин пігменту, то окремі ділянки спектра виявляться поглиненими і на їх місці буде видно темні смуги. Отриманий спектр називається спектром поглинання. Ту частину спектру, яка дуже добре поглинається, можна визначити за спектром поглинання дуже розведеного розчину. Для виявлення ділянок спектра, що слабо поглинаються, необхідно використовувати більш концентровані розчини.

2. Спиртову витяжку хлорофілу готують стандартним способом, зазначеним в лабораторній роботі 17. Для вивчення спектру поглинання каротинів, подрібнюють коренеплід моркви, заливають його бензином та фільтрують. Витяжку ксантофілів отримують за методом зворотного розділення пігментів по Краусу.

3. Для виявлення частини спектру, що поглинається, потрібно максимально освітлити щілину спектроскопа. Розглянути спектр видимого світла. Для вивчення спектрів поглинання пігментів розміщують послідовно пробірки з розчинами перед щілиною спектроскопа та спостерігають положення чорних смуг, які відповідають тим частинам спектру, що поглинається пігментами. Заповнити таблицю 5.2, позначивши кольоровими олівцями спектр поглинання розчинів хлорофілу різної концентрації, каротину і ксантофілу.

³ URL: <https://storage.googleapis.com/publiclab-production/public/system/images/photos/000/022/797/original/foldable-2.0.7.pdf>

Таблиця 5.2 – Частини спектру, що поглинаються рослинними пігментами

Розчини	Ф	С	Г	З	Ж	О	К
Хлорофілу Дуже слабкий (1:10) Середній (1:5) Концентрований (1:1)							
Каротину							
Ксантофілу							

Флуоресценція хлорофілу

Явище флюоресценції спостерігається в розчинах хлорофілу. Пробірку з витяжкою хлорофілу розглянути в світлі. Помістити пробірку з розчином хлорофілу на темний фон у відбитому світлі. Відзначити зміну забарвлення витяжки. Зробити висновок про причини флюоресценції.

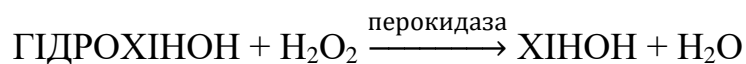
Контрольні питання

1. Які промені поглинаються хлорофілом найбільш сильно, слабо?
2. Які промені поглинають жовті пігменти?
3. Поясніть явище флюоресценції хлорофілу.

6 ДИХАННЯ РОСЛИН

Лабораторна робота 21 Ферменти дихання. Виявлення пероксидази в рослинних тканинах

Теоретичні відомості. Ферменти дихання – це білки, що каталізують окислювально-відновні перетворення дихального субстрату. Вони належать до класу оксидоредуктаз, серед яких вирізняють ферменти, що беруть участь у процесах дегідрування (відщеплення водню), тобто дегідрогенази (анаеробні та аеробні), та оксидази. Дегідрогенази переносять протони водню на проміжні переносники водню. Коферментами дегідрогеназ можуть бути НАД, НАДФ, ФАД. Оксидази каталізують перенесення електронів на кисень з відновленням його до води або перекису водню. Кінцевим етапом окислення є передача як електрону, так і протону на кисень повітря, з утворенням H_2O або перекису водню – H_2O_2 . Серед оксидаз значне місце займають ферменти, що містять Fe (залізопротеїди) та Cu (мідьпротеїди). Залізопротеїди: каталаза, пероксидаза, цитохромоксидаза та цитохроми. До мідьпротеїдів відносяться поліфенолоксидази або фенолоксидази, а також аскорбіноксидаза. Пероксидаза здатна окислювати органічні сполуки з допомогою будь-яких органічних перекисів. У рослинах перекис водню утворюється під дією оксидаз (поліфенолоксидаз, монофенолоксидаз). Пероксидаза разом із перекисом водню утворює комплексні сполуки, у результаті перекис активується і набуває здатність діяти як акцептор водню. Пероксидаза може окислювати (нейтралізувати) продукти вторинного обміну поліфеноли та деякі органічні аміни. Наприклад, під дією пероксидази та перекису водню гідрохінон переходить в інтенсивно буро забарвлений хінон.



Мета роботи. Виявити фермент пероксидазу в рослинному матеріалі.

Матеріали та обладнання. Бульби картоплі; 1 %-й розчин гідрохінону; 3 %-й розчин перекису водню; вода; скальпелі; піпетки; пластикові тарілки.

Хід роботи

1. 3 бульби картоплі впоперек нарізають 4 пластини завтовшки 3–4 мм і розкладають на пластиковій тарілці.
2. На зріз першої пластини картоплі (носій пероксидази) наносять тільки воду, на другу – тільки гідрохінон, на третю тільки H_2O_2 , на 4-ту перекис водню і гідрохінон.
3. При окисленні гідрохінону до хінону відбувається інтенсивне побуріння зрізу. Слабке побуріння зрізу спостерігається і без нанесення гідрохінону та перекису водню, воно не пов'язане з дією пероксидази, яка виявляє активність тільки в присутності перекису водню, це відбувається у зв'язку з дією поліфенолоксидази, що окислює поліфеноли за участю молекулярного кисню.
4. Результати записують у таблицю 6.1 за наведеною формою.

Таблиця 6.1 – Наявність пероксидази в запасуючих тканинах картоплі

Варіант	Зріз картоплі	Гідрохінон	H_2O_2	Колір зрізу
1	+	–	–	
2	+	+	–	
3	+	–	+	
4	+	+	+	

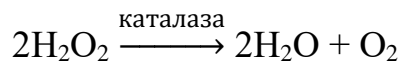
Контрольні питання

1. Які ви знаєте ферменти дихання?
2. Поясніть роль пероксидази в процесі дихання
3. Про що свідчать результати дослідів?

Лабораторна робота 22 Визначення активності каталази у рослинних матеріалах

Теоретичні відомості. Фермент каталаза відноситься до класу оксидоредуктаз і предствалє собою залізопротеїд, небілкова частина якого представлена залізопорфірином. Діяльність каталази в живій клітині пов'язана

з активністю флавопротеїдів – найважливішої ланки електронтранспортного ланцюга дихання. Каталаза розщеплює токсичний для живої клітини перекис водню, що утворюється як побічний продукт діяльності флавопротеїдів, на воду і молекулярний кисень:



Про активність каталази судять за обсягом кисню, що виділяється в результаті розкладання перекису водню.

Якщо активність каталази в тканинах організмів знижується, то це може служити показником ступеня забруднення навколишнього середовища ксенобіотиками.

Мета роботи. Виявити активність каталази в рослинних об'єктах та її активність залежно від особливостей рослинного матеріалу.

Матеріали та обладнання. Листя кімнатних рослин різного віку; сухі, набубнявілі та пророслі насіння пшениці; проростки різних дводольних рослин; коріння і коренеплоди; 3 %-й розчин H_2O_2 ; пробірки; порцелянова ступка з товкачиком; штатив для пробірок.

Хід роботи

В ході роботи необхідно порівняти каталазну активність залежно від:

- 1) видової приналежності рослин;
- 2) віку тканин;
- 3) типу органу однієї рослини.

1. Кожний вид рослинного матеріалу розтерти окремо в ступці з додаванням невеликої кількості води (до 1 мл). До розтертої кашки долити 5 мл води, ретельно перемішати і профільтрувати в чисті сухі пробірки через зволожений складчастий фільтр. Для роботи досить 3–4 мл витяжки ферменту.

2. До витяжки додати 2 мл 3 %-го перекису водню. В результаті розкладання перекису водню ферментом виділяються бульбашки кисню, що дають добре помітну піну. Для порівняння активності каталази в різних об'єктах слід брати рівну кількість матеріалу за масою.

3. Активність ферменту оцінити в балах:

- інтенсивне утворення піни – 4 бали,
- помірне – 3,
- слабке – 2,
- дуже слабке – 1 бал,
- відсутність активності – 0 балів.

Результати записати в таблицю 6.2. Зробити висновок про залежність активності каталази і (опосередковано) інтенсивності дихання від внутрішніх і зовнішніх факторів.

Таблиця 6.2 – Залежність активності каталази від виду рослинного матеріалу

Вид рослинного матеріалу	Активність каталази, бал

Контрольні питання

1. Що собою являє каталаза?
2. У чому полягає зв'язок каталази з дихальною ЕТЛ рослин?
3. Який принцип виявлення активності ферментів?

Лабораторна робота 23 Втрата сухої органічної речовини під час проростання насіння

Теоретичні відомості. Інтенсивність дихання визначають, вимірюючи кількість поглиненого клітинами кисню або виділеної вуглекислоти, або окисленої органічної речовини. Найбільш зручний об'єкт для обліку кількості витрачених на дихання органічних речовин – насіння, що проростає. Пророщування ведуть в темряві на вологий тирсі або фільтрувальному папері, тобто в умовах, що виключають можливість як ґрунтового, так і повітряного харчування. Після закінчення певного часу проростки висушують і зважують. Для визначення вихідної сухої ваги необхідно використовувати іншу порцію такого ж насіння, оскільки висушування при високій температурі вбиває зародки і робить насіння нежиттєздатними.

Мета роботи. Визначити втрату сухої органічної речовини при проростанні насіння гороху.

Матеріали та обладнання. Насіння гороху, фільтрувальний папір; ваги; сушильна шафа.

Хід роботи

1. Помістити на ваги 10 здорових і по можливості однакових насінин і врівноважити другою порцією з десяти таких же насінин.
2. Одну порцію помістити на 1–2 години в посудину з невеликою кількістю води, щоб викликати набухання насіння. Другу порцію насіння зважити, помістити в бюкс, висушити при температурі 100–105⁰С, охолодити в ексикаторі і визначити абсолютно суху вагу. Розкласти набряклі насінини на зволожений фільтрувальний папір і вкрити зверху тирсою або зволоженою ганчіркою. Помістити стакан в темряву і щодня поливати водою.
3. Через тиждень витягти проростки (щоб не пошкодити коріння, ретельно промити коріння, обсушити проростки фільтрувальної папером і визначити сиру вагу. Помістити проростки в пакет з фільтрувального або газетного паперу, висушити до абсолютно сухої ваги і зважити. Якщо проросли не всі насіння, то враховують тільки пророслі, а потім перераховують результати на ту кількість насіння, яка була використана в досліді.
4. Отримані дані оформити у вигляді таблиці 6.3.

Таблиця 6.3 – Показники ваги насіння до та після досліді

Вага 10 насінин, г		Вміст води в насінні, %	Вага 10 проростків, г		Вміст води в проростках	Втрата сухої речовини		
Повітряно-сухих	Абсолютно сухих		Сирих	Абсолютно сухих		В грамах на 10 насінин	У відсотках від вихідної ваги	
							За 1 добу	За 7 діб

Контрольні питання

1. Які методи визначення інтенсивності дихання вам відомі?
2. Які причини зміни ваги сирого та сухого насіння при проростанні?

7 РІСТ І РОЗВИТОК РОСЛИН

Лабораторна робота 24 Вивчення впливу фітогормонів та ріст і розвиток рослин

Теоретичні відомості. Ріст клітин відбувається під контролем гормонів і регуляторів росту негормональної природи. Ауксин синтезується в верхівкових меристемах пагонів і коренів, молодому листі, зародках насіння. У ембріональній фазі ауксин стимулює поділ клітин, а потім їх розтягнення, регулює пересування поживних речовин в рослині. Збільшення кількості ауксину в зростаючих клітинах збільшує приплив до них поживних речовин, що призводить до посилення росту клітин, але подальший синтез ауксину, навпаки, заповільнює ріст клітин. Збільшення кількості ауксину стимулює утворення етилену, який затримує ріст у довжину. У багатьох рослин ауксин грає визначальну роль в гравітропізмі кореня, проте деякі експерименти виявляють дію абсцизової кислоти на гальмування ділення клітин нижнього боку кореня, що викликає уповільнення зростання і, відповідно, згинання у напрямку до центру Землі.

Етилен пригнічує розтягнення клітин, блокує пересування ауксину. Тому за наявності механічної перешкоди (наприклад, твердий ґрунт), синтезується додаткова кількість етилену, корінь змінює напрям росту, «відмовляється» від гравітропізму та переходить до формування «якірних коренів». Накопичення етилену в значних кількостях прискорює старіння клітин листя, плодів, квіток. Він грає важливу роль в регуляції дозрівання плодів, опадання листя.

Мета роботи. Познайомитись з впливом різних фітогормонів на ріст і розвиток рослин.

Матеріали та обладнання. Зрілі яблука (джерело етилену); 2 скляних ковпаки; 2 посудини з проростками гороху; 2–4 пагони деревної

рослини; рослини гороху посівного з вусиками на листках; 50 мл розчину ауксину (гетероауксину) концентрацією 150 мг/л; проросле насіння вівса або пшениці, довжина колеоптилів якого не менша за 1,5 см (100–200 шт.); дистильована вода, 2 %-й розчин сахарози, розчин ІОК (1 г на 1 л); пробірки; чашки Петрі; дерев'яна паличка, леза для нарізання колеоптилів.

Хід роботи

Дослід 1. Вплив етилену на передчасну дефоліацію листя.

1. У 2 склянки з водою розміщують по 1–2 гілки деревної рослини на вибір (карагана деревоподібна, черемха або ін.). Листя повинні бути зеленими, без ознак пожовтіння. Накривають скляними ковпаками. Під один з них кладуть кілька зрілих яблук. Через тиждень у варіанті досліду з яблуками почнеться опадання листя. В іншому варіанті листя залишаються на пагонах.

2. Результати досліду дозволяють зробити висновок, що газоподібні виділення зрілих яблук спричиняють передчасне опадання листя. Як ми вже знаємо, що цією газоподібною речовиною є етилен. Він синтезується в перикарпії в період дозрівання плодів, де стимулює накопичення цукрів, руйнування хлорофілу і синтез антоціанів. В місці з'єднання листового черешка з пагоном етилен стимулює гідроліз протопектину, який переходить в розчинний пектин – і під дією своєї маси листок з черешком можуть легко від'єднатися, таким чином відбувається дефоліація.

Дослід 2. Вплив ауксину на закручування вусиків гороху

1. Ауксин погано розчиняється в холодній воді, тому розчин потрібно готувати напередодні досвіду. Для отримання потрібної концентрації розчиняють 8 мг ауксину в 50 мл води, нагріваючи до 80–90°C. У досліді використовую 3 відрізки стебла гороху, що несуть листя з молодими, ще не закрученими вусиками. Поруч з ними ставлять 3 чашки Петрі. У перші дві наливають воду, в третю – розчин ауксину (гетероауксину).

2. Кінці вусиків обережно опускають в підготовлені чашки так, щоб вони не торкалися краю. Вусик, який перебуває в першій чашці, – контрольний. Якщо попередні етапи роботи виконані акуратно, то він до кінця

досліді не закручується. Нижню сторону верхівки другого вусика кілька разів злегка потирають паличкою, імітуючи зіткнення вусики з опорою. Від подразнення він почне поступово закручуватися. Вусик, занурений в розчин ауксину, починає закручуватися мимовільно, без додаткового подразнення.

3. У гороху посівного в вусик перетворюється верхня частина складного перистого листа, тому, як і лист, вусик диференційований на верхній і нижній бік, що розрізняються за будовою і властивостями. Перерозподіл ауксину, збільшення його вмісту в клітинах верхньої частини вусика – відповідна реакція його на дотик. У деяких рослин чутливість вусиків настільки висока, що вони можуть сприймати подразнення від дотику вовняної нитки масою 0,025 мг.

4. Зробити висновки про причини закручування вусиків гороху посівного.

Дослід 3. Виявлення впливу індолілоцтової кислоти (ІОК) на ріст відрізків колеоптилів злаків

1. Для початку готують розчин ІОК. 3 г ІОК розчиняють в 5 мл спирту та розбавляють у 1 л води, яку нагрівають до 80 °С протягом 5 хв, після чого об'єм доводять до 2,5 л.

2. У шість пробірок по 18 мл 2 %-го розчину сахарози. У першу пробірку додають 2 мл розчину ІОК, перемішують, відбирають з неї 2 мл і вносять у наступну пробірку. Цю процедуру повторюють до 5 пробірки, в останню додають 2 мл чистої води.

3. Приготовані розчини розливають у 6 чашок Петрі, в які пензликом переносять декапітовані (без 3 мм верхівки) колеоптилі вівса и пшениці завдовжки 10 мм. Верхівки зрізають, щоб синтезовані в них ауксини не впливали на ріст рослинного матеріалу.

4. Чашки Петрі накривають кришками і переносять у темряву на 3 дні при температурі 25 °С. Через визначений час заміряють довжину колеоптилів, заносять дані в електроні таблиці відповідно до таблиці 7.1 для статистичної обробки, визначають середнє значення. Студенти будуть графік

залежності довжини колеоптилю від концентрації ІОК, визначають коефіцієнт кореляції.

Таблиця 7.1 – Вплив ІОК на ріст колеоптилів злаків

Номер чашки Петрі	Довжина колеоптилів, мм		Приріст колеоптилів, мм
	початкова	кінцева	

Контрольні питання

1. Які види фітогормонів присутні в рослинах, де вони синтезуються?
2. Опишіть механізм геліотропізму та негативного геотропізму пагонів у рослин.
3. Поясніть причину передчасної дефоліації у досліді 2.
4. Розкажіть про основні регуляторні властивості ауксину.

Лабораторна робота 25 Вплив газоподібних виділень рослин на проростання насіння

Теоретичні відомості. До складу летких сполук, які отримали загальну назву фітонцидів (від грец. «фітон» – рослини, «цидо» –вбивати), входять ефірні масла, альдегіди оцтової і пропіонової кислот, метиловий і етиловий спирти, поліфеноли та інші сполуки. До утворення комплексу летючих сполук здатні всі рослини, особливо пошкоджені. Саме тому при проведенні дослідів рекомендується використовувати кашицю з листя, що отримується шляхом його розтирання. Склад і кількість хімічних речовин, що виділяються рослинами, специфічні для кожного виду, що позначається на характері їх взаємовідносин. Наприклад, ясен звичайний, осика, липа дрібнолиста, клен пригнічують, а береза повисла, клен гостролистий – стимулюють ріст дубу. Навпаки, сосна звичайна негативно реагує на виділення газоподібних речовин листям берези повислої. Хімічні речовини, які виділяються листям і корінням

вищих рослин, відіграють важливу роль у формуванні угруповань рослин (фітоценозів).

Явище, що супроводжується виділенням однієї або кількох біохімічних речовин одним організмом, які впливають на проростання, ріст, виживання та розмноження інших організмів, називають *алелопатією*. Алелопатичний вплив може бути як позитивним, так і негативним. Відомими рослинами-алелопатами з негативним впливом є горіх чорний, айлант найвищий, які суттєво пригнічують ріст інших рослин в безпосередній до них близькості.

Мета роботи. З'ясувати, як впливають леткі виділення рослин (фітонциди) на проростання насіння гороху.

Матеріали та обладнання. Набубнявіле насіння гороху посівного або іншого виду рослин; листя кімнатних рослин (алое деревоподібне, пеларгонія зональна); 2 чашки Петрі (або півлітрові банки); пластилін; ступка з товкачиком; фільтрувальний папір.

Хід роботи

1. У центрі чашки Петрі з пластиліну роблять бортик, ретельно приклеюючи його до дна. Навколо бортика поміщають змочене водою кільце з фільтрувального паперу і розташовують на ньому по периметру на рівній відстані один від одного 10 насінин гороху.

2. 5 г листя досліджуваного рослини розтирають в ступці з піском та викладають отриману масу в поглиблення, обмежене бортиком, швидко закривають чашку і ставлять в тепле місце.

3. В контрольній чашці в поглиблення замість рослинної маси наливають чисту воду.

4. Регулярно стежать за станом насіння і при необхідності зволожують фільтрувальний папір.

5. Відзначають, на яку добу від початку досліду спостерігається проростання насіння. Коли корінці в одному з варіантів досліду досягнуть 1–1,5 см, обчислюють середню довжину корінця, а також відсоток пророслого

насіння. Середні значення довжини коренів, відсоток пророслого насіння заносять в таблицю 7.2.

6. Роблять висновки, як летючі виділення листя можуть впливати на проростання насіння і ріст коренів гороху посівного (як стимулюючий фактор (алоє деревоподібне), так і гальмуючий (пеларгонія зональна).

Таблиця 7.2 – Залежність довжини корінців пророслого гороху від впливу летючих сполук різних рослин

Вид об'єкта	Середня довжина коренів проростків
Контроль (проростки гороху + вода)	
Проростки гороху + алоє	
Проростки гороху + пеларгонія	

Контрольні питання

1. Що таке фітонциди, дайте визначення.
2. Наведіть приклади фітонцидної активності рослин в природі та її ролі у формуванні фітоценозів.
3. Поясніть суть отриманих результатів під час виконання лабораторної роботи.

Лабораторна робота 26 Полярність живців

Теоретичні відомості. Рослини мають чітко виражену полярність в розташуванні органів, що виражається в формуванні листків в верхній частині пагонів та коренів – в морфологічно нижній їх частині. Ця полярність проявляється також на рівні клітин та тканин, які мають різні електричні заряди на різних кінцях. Отже, полярність у рослин формується відмінностями як фізико-хімічних, так і фізіологічних процесів морфологічно протилежних кінців рослин.

Полярність проявляється у всіх живих організмів, особливо яскраво вона виражена у рослин з ортотропними пагонами. Ефект полярності

проявляється і під час формування зародка насіння при утворенні зародкових бруньки та кореня.

Полярність рослинних живців можна спостерігати на прикладі утворення придаткових коренів у нижній за морфологічними показниками частині рослини. Пагони утворюються у верхній за морфологічними показниками частині рослини незалежно від орієнтації в просторі. Одним із пояснень такої чіткої полярності є особливості фізіологічних процесів, пов'язаних із синтезом та переміщенням фітогормону ауксину. Ауксин синтезується в апікальній частині пагону, переміщується та скупчується в базальній частині рослини відповідно до морфолого-анатомічного зонування, де стимулює розвиток калюсу та придаткових коренів. Якщо на живці зрізати смужку кори в середній його частині, то коріння буде формуватися над кільцевою вирізкою, що доводить переміщення ауксину в коровій частині рослини. Коріння утвориться також в найнижчій частині живця.

Мета роботи. Дослідити ефект полярності у рослин на прикладі живців. Засвоїти теоретичний матеріал щодо ролі ауксину у формуванні полярності органів рослин.

Матеріали та обладнання. Гілки тополі або верби; секатор; ножиці; вода; скляна посудина для монтажу вологої камери; нитки; фільтрувальний папір.

Хід роботи

1. Попередньо готують вологу камеру. Волога камера – це скляна посудина, на дно якої наливають 2–3 см води, а стінки обкладають фільтрувальним папером.

2. З верби або тополі вирізають три пагони певної довжини, яка дозволить підвісити пагони у вологій камері таким чином, щоб вони не торкались води на дні камери.

3. В середній частині у одного із живців зняти смужку кори шириною близько одного сантиметру. Далі необхідно підвісити живці на нитках до

кришки вологої камери. Два живці, в тому числі, зі знятою смужкою кори, підвісити в нормальному положенні, а третій – в перевернутому.

4. Через 2–3 тижні на тих частинах живців, які морфологічно належать до основи пагону, утвориться калюс та придаткові корені. В частинах живців, які належать до морфологічної верхівки, виростуть нові пагони.

5. Необхідно замалювати досліджувані живці та зробити висновки, пояснивши причину утворення придаткових коренів та нових пагонів в тій чи іншій частині живців та як це може бути пов'язано з напрямком руху та накопиченням ауксину в рослині.

Контрольні питання

1. Поясніть ефект полярності у рослинних організмів (наведіть приклади).

2. Як можна пояснити ефект полярності верхівки пагону та корені на основі фізіологічних процесів?

3. Зробіть висновки щодо отриманих результатів лабораторної роботи та поясніть їх причину.

Лабораторна робота 27 Особливості росту органів рослин

Теоретичні відомості. В результаті поділу, розтягнення та диференціювання клітин виникають тканини та органи. У рослин ці процеси виникають в меристемах. Меристематичні клітини перебувають в ембріональній фазі. Клітини, що розтягуються, складають відповідну зону розтягнення кореня чи стебла. В результаті, в таких органах, як стебло, корінь або листок у однодольних рослин можна виділити *зону інтенсивного росту* органу. Це одна з відмінностей росту рослин від тварин. В листку дводольних рослин поділу на зони немає, серед клітин, що розтягуються, є клітини, що діляться, а диференціювання може співпадати з розтягненням.

Друга відмінність полягає в тому, що у тварин протягом життя відбувається лише збільшення розмірів вже закладених перед народженням органів, а у рослин закладення та збільшення розмірів органу йде паралельно протягом всього онтогенезу.

Існують відмінності і в характері росту окремих органів самої рослини. Стебло та корінь ростуть своєю верхівковою та латеральною меристемою, в той час як у листка ріст відбувається частіше всього біля основи. При цьому листок має обмежений ріст, тобто через деякий час перестає рости.

Обмежений ріст характерний для більшості видів тварин. У одних видів тварин зростання не припиняється все життя (у риб), у других йде до певної вікової межі (птахи та ссавці); у третіх відбувається тільки в період линьки (ракоподібні та круглі черви), а у четвертих – тільки на стадії личинки (комахи).

У стебел та коренів ріст необмежений, тобто продовжується протягом всього життя рослини.

Таким чином, на відміну від рослин, зростання яких відбувається шляхом подовження та розростання в сторони, більшість тварин ростуть за рахунок збільшення розмірів кожного органу або тканини.

Для вивчення ростових процесів широко застосовують метод нанесення відміток на поверхню органу через однакові відстані. У міру росту органу відстані між мітками збільшуються і можуть бути використані для характеристики інтенсивності росту різних ділянок зон росту органів рослин.

Мета роботи. Визначити за допомогою методу відміток зони інтенсивного росту кореня та стебла рослини.

Матеріали та обладнання. Маркер; фільтрувальний папір; субстрат для вирощування (перліт, вермикуліт); проростки гороху, соняшника; чашки Петрі; лінійка; вода.

Хід роботи

Визначення зони росту кореня

1. Використовують проростки гороху з корінням завдовжки 1,5–2 см, проростки соняшника висотою 2–3 см, вирощені у темряві.
2. Насіння гороху проростити в субстраті, в якому скляною паличкою зроблено поглиблення для вільного вертикального росту кореня.
3. Повне пряме коріння довжиною 1,5–2 см обережно обсушити фільтрувальним папером.
4. На корені нанести відмітки маркером на відстані один міліметр. Відмітки повинні бути тонкими та добре помітними.
5. Проростки поміщають у чашках Петрі на вологому фільтрувальному папері.
6. Через добу виміряти відстані між відмітками (при збільшенні ширини самих відміток вимірювати від їхньої середини) та обчислити середній добовий приріст різних ділянок кореня.
7. Результати висловити графічно (по осі абсцис номера відрізків, по осі ординат – прирости).
8. Результати досліду записати у вигляді таблиці 7.3.
9. Зробити висновки про особливості росту кореня.

Визначення зони росту стебла

1. На чотирьох проростках соняшника висотою 2–3 см, починаючи від верхівки проростка, нанести по десять відміток на відстані 2 мм один від одного.
2. Проростки помістити у темне місце за нормальної температури 20–25 °С.
3. Через добу виміряти відстані між відмітками та обчислити приріст різних ділянок стебла.
4. Результати досліду записати у вигляді таблиці 7.3.
5. Зробити висновки про особливості росту стебла.

Таблиця 7.3 – Форма запису результатів

Номер кореня (стебла)	Зона приросту, мм									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10...
1										
2										
3...										

Контрольні питання

1. Опишіть особливості ростових процесів у рослин.
2. Зазначте відмінності росту рослин та тварин.
3. Які особливості росту кореня та стебла у рослин?

Лабораторна робота 28 Онтогенез рослин. Тривалість періоду глибокого спокою у різних видів рослин

Теоретичні відомості. Взимку у деяких видів рослин є період, коли їхні пагони при перенесенні в сприятливі для зростання умови, не здатні до розпускання бруньок. Якщо почати досвід в липні, можна помітити, що на початковому етапі формування бруньок вони ще здатні до проростання (за умови, якщо попередньо прибрати все листя з пагону). Потім бруньки деревних рослин важче проростають навіть при сприятливих умовах. Це пов'язано із входженням рослин в період так званого *глибокого (органічного) спокою*.

Для глибокого спокою бруньок деревних рослин характерна внутрішня, фізіологічна неготовність до відновлення зростання в найсприятливіших умовах. Коли деревні рослини у вересні – жовтні переходять в стан глибокого спокою, зміст в бруньках гормонів (ауксинів, гіберелінів), що стимулюють ріст, зменшується, а зміст інгібіторів росту (абсцизової кислоти) зростає. Під дією перенесених морозів в клітинах точок зростання знову починається синтез гормонів росту, насамперед гібереліну. У міру накопичення в бруньках гормонів – стимуляторів ростових процесів – здатність до зростання в

сприятливих умовах поновлюється, що свідчить про закінчення періоду глибокого спокою.

У різних рослин тривалість глибокого спокою не однакова. Бруньки липи дрібнолистої набувають здатності до проростання тільки в січні, тополі чорної – в жовтні – листопаді, а у бузку звичайного період глибокого спокою ще коротший. У деяких видів період глибокого спокою може бути практично відсутній.

Треба мати на увазі, що найлегше вигонці піддаються рослини, які цвітуть до розпускання листя. Період глибокого спокою у них дуже короткий і ніякої спеціальної обробки, якщо знати приблизний час, необхідний для розпускання бруньок в листопаді – квітні, не потрібно. До таких рослин належать форзиція повисла, айва японська, магонія падуболиста, вишня, черешня, алича, абрикос. Догляд за пагонами складається в щотижневій зміні води, підрізання стебел, щоденному обприскуванні водою (набухання бруньок навесні відбувається в основному шляхом поглинання ними води або вологого повітря).

Мета роботи. Провести порівняльний аналіз особливостей періодів спокою у різних рослин. Проаналізувати хід та результати дослідів з вигонки форзиції повислої та вишні звичайної.

Матеріали та обладнання. Зошит; ручка; лінійка; кольорові олівці.

Хід роботи

1. В ході дослідів зрізали пагони вище зазначених видів кожні 10 днів в період з жовтня по січень. В результаті дослідження виявили, що для розпускання вегетативних бруньок форзиції повислої знадобилося від 15 днів в жовтні, 20 днів у листопаді, 32 днів у грудні та 10 днів у січні. Тривалість розпускання квіткових бруньок менше варіюється, від 9 днів у жовтні–листопаді, 13 – у грудні та 6 – у січні. Така поведінка генеративних бруньок форзиції обумовлена тим, що вони зацвітають до розпускання листя, тому квіткові бруньки повністю формуються з осені. У вишні розрив між цвітінням і розпусканням листя менше, але все ж цвітіння починається раніше, тому

терміни розпускання квіткових бруньок у неї дещо менше (21, 20, 18, 13 днів), ніж листкових (28, 35, 16, 13 днів).

2. На основі даних таблиці 7.4 тривалості тривалості зимового спокою генеративних та вегетативних бруньок форзиці повислої та вишні звичайної створити графіки.

3. Сформуванати висновки щодо наявності чи відсутності глибокого спокою у досліджуваних видів. Визначити місяці, коли зимовий спокій у досліджуваних видів найглибший. Визначити місяці, коли найлегше проводити вигонку для форзиції та вишні.

Таблиця 7.4 – Порівняння тривалості зимового спокою генеративних та вегетативних бруньок форзиці повислої та вишні звичайної

Місяць	Генер. бруньки форзиції	Генер. бруньки вишні	Вегет. бруньки форзиції	Вегет. бруньки вишні
Жовтень	9	20	15	28
Листопад	9	21	20	35
Грудень	13	18	32	16
Січень	6	13	10	13

Контрольні питання

1. Що таке глибокий та вимушений спокій у рослин?
2. Як рослини відрізняються за тривалістю глибокого спокою?
3. Як визначити період зимового спокою у рослин?
4. Якою буде тривалість вигонки форзиції та вишні, якщо починати її листопаді–грудні та січні?

Лабораторна робота 29 Фенологічні ритми у рослин

Теоретичні відомості. Фенологія вивчає в загальному періодичні явища в живій та неживій природі, а біологічна (екологічна) фенологія вивчає, як зміна пір року впливає на розвиток рослин та інших живих організмів.

Фенологічні ритми рослин – це сезонні ритми росту та розвитку рослин.

Активні температури – це середньодобові температури повітря, що вище біологічного мінімуму, встановленого для певного періоду розвитку організму;

Ефективні температури – це різниця між середньодобовою активною температурою і біологічним мінімумом.

Сума активних температур – це сума середніх добових температур, вищих за біологічний мінімум.

Сума ефективних температур – це сума середніх добових температур повітря, зменшених на величину біологічного мінімуму.

Суми активних та ефективних температур для різних рослин неоднакові, тому що в них звичайно різні біологічні мінімуми.

Сума активних температур за будь-який період (декада, місяць, рік) може бути визначена з формули (7.1):

$$\sum t_{\text{акт}} = t_{\text{сер}} \cdot n, \quad (7.1)$$

де $\sum t_{\text{акт}}$ – сума активних температур повітря за період, °С,

$t_{\text{сер}}$ – середня за період активна температура повітря, °С,

n – кількість днів у періоді.

Сума ефективних температур повітря за цей же період підраховується за формулою (7.2):

$$\sum t_{\text{еф}} = (t_{\text{сер}} - B) \cdot n, \quad (7.2)$$

де $\sum t_{\text{еф}}$ – сума ефективних температур повітря за період, °С,

$t_{\text{сер}}$ – середня за період активна температура повітря, °С,

B – біологічний мінімум, °С,

n – кількість днів у періоді.

Мета роботи. Опанувати методику розрахунку суми активних та ефективних температур, навчитись визначати дати етапів онтогенетичного розвитку різних видів рослин.

Матеріали та обладнання. Зошит, калькулятор, ручка.

Хід роботи

1. Розрахувати суму активних та ефективних температур за даними таблиці при значенні біологічного мінімуму 10 °С (табл. 7.5).
2. Розрахувати суму активних та ефективних температур за даними таблиці 7.6 при значенні біологічного мінімуму 5 °С.
3. На основі таблиць суми ефективних температур (вище 5 °С), яка необхідна для зацвітання деяких деревних видів (табл. 7.7), та середньомісячної температури повітря Харкова (табл. 7.8) розрахувати приблизну дату їх цвітіння в умовах м. Харків.

Таблиця 7.5 – Середньодобова температура повітря в травні для м. Харків⁴

Показник	Місяць, число								
	Травень								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Середньодобова температура повітря (t _{сер}), °С	9,2	10,2	10,6	10,7	12,4	14,8	14,2	11,3	11,0

Таблиця 7.6 – Середньодекадна температура повітря для м. Харкова у літні місяці⁴

Показник	Період (місяць, декада)								
	Травень			Червень			Липень		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Середньодекадна температура повітря (t _{сер}), °С	16,3	14,4	18,5	19,6	21,6	21,9	23,2	24,1	24,7

Таблиця 7.7 – Суми ефективних температур (вище 5 °С) від початку вегетації до цвітіння деяких деревних видів

Культура, сорт	$\Sigma t > 5^{\circ}\text{C}$	Дата початку цвітіння
Гіркокаштан кінський	132±20 (початок) 238±20 (масово)	
Абрикос краснощокый	88±10	
Груша, усі сорти	125±10	
Вишні – Володимирська, Любська	150±10	
Яблуня – Антонівка звичайна, Білий налив, Жовтий налив, Апорт, Кальвіль, Папіровка, Джанатан, Пепін	185±10	
Яблуні – усі інші сорти	125±10	

⁴ URL: <https://meteopost.com/weather/climate/>

Таблиця 7.8 – Середньомісячна температура протягом року у м. Харків⁵

Показник	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII
Середня температура, °C (2021 р.)	-2,5	-5,0	1,1	8,3	15,7	20,5	24,7	23,8	13,4	8,1	3,8	-2,0

Контрольні питання

1. Поясніть поняття фенологічних ритмів у рослин.
2. Поясніть поняття біологічного мінімуму та його значення для розуміння особливостей розвитку рослин.
3. Дайте визначення для понять «активні температури», «сума активних температур», «ефективні температури» та «сума ефективних температур».

⁵ URL: <https://meteopost.com/weather/climate/>

8 СТІЙКІСТЬ ТА АДАПТАЦІЯ РОСЛИН

Лабораторна робота 30 Морозостійкість рослин. Захисна дія цукрів на клітинні мембрани рослин та запобігання коагуляції білків за умови від'ємних температур

Теоретичні відомості. Морозостійкість – здатність рослин переносити температуру нижче 0 °С. Утворення льоду в тканинах рослин є основною причиною їх загибелі від низьких температур. Якщо ж вода в рослині не замерзає, а знаходиться в переохолодженому стані, то рослини здатні витримати дуже низькі температури, аж до мінус 40 °С. Лід може утворюватися як в міжклітинному просторі, так і в протопласті клітини. Поступове зниження температури призводить до утворення кристалів льоду насамперед у міжклітинному просторі і спочатку не викликає загибелі клітин. Однак наслідки цього процесу можуть бути згубними для клітини, якщо в ході міжклітинного льодоутворення відбувається надмірний відтік води з клітини, що, в свою чергу, викликає підвищення внутрішньоклітинної концентрації іонів. Наслідком цього може зневоднення протопласту та підвищення пасивної проникності плазмалемі через її структурні зміни.

Іншою причиною загибелі клітин рослин при льодоутворенні, крім надмірного зневоднення клітин, є механічний тиск, стиснення клітин зростаючими кристалами льоду. Тому наслідки впливу низьких негативних температур в значній мірі залежать від оводнення тканини рослини. Насичені водою тканини легко пошкоджуються, сухе ж насіння можуть виносити низькі температури (до мінус 120 °С).

Під час пошкодження клітини цитоплазма та її мембрани втрачають властивості напів-проникності та речовини, що знаходяться в клітинному соці, вільно виходять назовні. Особливо добре це помітно, якщо клітинний сік

містить кольорові пігменти, в такому випадку інтенсивність забарвлення зовнішнього розчину є показником ступеня пошкодження.

Стійкість до морозів досягається цілим комплексом фізико–хімічних змін в клітинах. Одною з них є накопичення цукрів у зимуючому листі та інших частинах рослини. Цукри захищають білкові речовини від згортання при виморожуванні, збільшуючи кількість зв'язаної і зменшуючи кількість вільної води. Пов'язана з колоїдами вода при дії низьких температур не перетворюється в лід.

Мета роботи. Вивчити захисну дію сахарози на мембрани протоплазми рослинної клітини та запобігання коагуляції білків при від'ємних температурах.

Реактиви та обладнання. Свіжі коренеплоди червоного буряку; бульби картоплі; вода; 0,5 та 1 моль/л розчини сахарози; ніж; дошка для нарізання; кристалізатор; посуд для заморожування; морозильна камера.

Хід роботи

1. За допомогою ножа зробити 10–12 тонких зрізів червоного буряка розміром приблизно 3 см × 4 см та товщиною 1–2 мм.
2. Помістити зрізи в кристалізатор і ретельно промити їх водою до повного видалення соку, що витік з пошкоджених клітин.
3. Перенести однакову кількість (3–4 шт.) зрізів в три пронумеровані посудини.
4. В першу посудину налити воду, в другу – 0,5 М розчин сахарози, в третю 1 М розчин сахарози. Об'єм рідини у всіх посудинах повинен бути однаковим.
5. Очищені бульби картоплі натерти на тертці та через подвійний шар марлі процідити сік. Верхній шар без крохмалю розлити в три пробірки по 2–3 мл соку. В першу пробірку додати такий самий об'єм води, другу – 0,5 М розчин сахарози, в третю 1,0 М розчин сахарози. Також можна додати четвертий дослідний варіант з 0,6 М розчину NaCl.

6. Поставити посудини з різними розчинами та зрізами буряка в морозильну камеру ($t \sim -14^{\circ} \text{C}$) приблизно на 1 год чи більше.

7. Вийняти посудини з морозильної камери та розморозити при кімнатній температурі.

8. Після того, як розчини у посудинах повністю розтануть, порівняти інтенсивність забарвлення розчинів з буряком та утворення осаду коагульованих білків в пробірках з картопляним соком (важливо, вміст пробірок перед цим не струшувати).

9. Занести результати досліду в таблицю 8.1.

10. За отриманими результатами зробити висновки щодо впливу різних концентрацій сахарози і хлориду натрію на стійкість рослинних клітин до дії низьких температур.

Таблиця 8.1 – Результати досліду

Об'єкти та матеріали	Варіанти досліду після розморожування		
	Сахароза, моль/л		Вода
Тип розчину			
Концентрація р-ну	1,0	0,5	–
Зрізи буряка			
Картопляний сік			

Контрольні питання

1. В чому полягає згубна дія морозу на рослину?
2. Зміна яких показників протоплазми можна використовувати в якості показника пошкодження?
3. Які захисні пристосування клітини у відповідь на пошкоджувальну дію від'ємних температур?

Лабораторна робота 31 Метод П'ятницького для визначення

водоутримувальної здатності листя і пагонів

Теоретичні відомості. *Посухостійкість* – важлива біологічна особливість деревних рослин, яка полягає в її здатності переносити весь комплекс несприятливих чинників, пов'язаних з перегрівом і зневодненням, та

здійснювати в цих умовах ріст, розвиток і відновлення завдяки наявності властивостей, які виникли у процесі філогенезу під впливом умов довкілля і природного добору. Посухостійкість деревних рослин зумовлена двома групами факторів: структурними (коренева система, стебла і провідна система листків) та протоплазматичними. Якщо структурні фактори сповільнюють процес віддачі води рослиною, то ступінь зневоднення, який може витримати протоплазма, є тим кінцевим фактором, що визначає остаточну посухостійкість рослин. Посуха завжди починається як атмосферна, яка можлива і за відсутності ґрунтової. При цьому одним з важливих елементів посухостійкості рослини є водоутримувальна та тургоровідновлювальна здатність її листків.

Отже, посухостійкість рослин значною мірою обумовлюється здатністю їх тканин утримувати воду на високому рівні при найглибшому в'яненні. Зважаючи на це, можна отримати порівняльну оцінку посухостійкості рослин, які за своєю структурою, будовою листя і корневих систем майже не відрізняються. Тобто, таким способом можна порівняти між собою зразки різних листяних деревних порід. Дослідження водоутримувальної здатності рослин за методом П'ятницького реалізується шляхом постановки зрізаних гілок на в'янення і визначення кількості води, яка випаровується ними через певні проміжки часу (12, 24, 36, 48 і т.д. годин).

Мета роботи. Оцінка фактичної посухостійкості, визначенні загального вмісту води, а також водоутримувальної і водовідновлювальної здатності листків різних деревних порід за допомогою лабораторних методів.

Матеріали та обладнання. Молоді пагони деревних рослин; вода; посуд для утримування пагонів у воді.

Хід роботи

1. З верхньої частини крони досліджуваних рослин двох листяних деревних порід зрізати молоді (поточного року) гілки з листям. Пагін має бути зеленим, листя нормально розвинене, неушкоджене.

2. Від кожного досліджуваного зразка беруть чотири пагони. Визначають довжину пагону і кількість листя на ньому. Після цього, пагони зважують на технічних вагах.

3. Після визначення ваги пагонів їх розкладають в захищеному від прямих сонячних променів місці для в'янення. Через кожні 12 годин здійснюють повторне зважування і відзначають кількість листя, що втратило тургор.

4. Приблизно через добу після розкладання, три з чотирьох пагонів вміщують нижніми кінцями у посудини з водою. Через 12 годин підраховують, скільки листя відновило тургор, а скільки залишилося у зів'ялому стані.

5. Зразки, у яких пагони втратили найменшу кількість вологи під час в'янення і зберегли здатність відновлювати свій тургор після глибокого в'янення, вважаються більш посухостійкими.

6. Розрахувати втрати вологи пагонами під час в'янення, як відношення кінцевого значення ваги пагонів до початкової їхньої ваги.

7. Зробити висновки про водоутримувальну здатність досліджуваних деревних видів на основі отриманих результатів

Контрольні питання

1. Дайте визначення посухостійкості рослин.
2. Які анатомічні, морфологічні, фізіологічні особливості рослин впливають на ступінь їх посухостійкості?
3. Чим обумовлена водоутримувальна здатність рослин?

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Вус Н. О. Альбом для лабораторних занять з дисципліни «Фізіологія рослин» / Н. О. Вус., О. В. Твердохліб, Д. В. Леонтєєв. – Харків : ХНПУ, 2020. – 48 с.

2. Загороднюк Н. В. Фізіологія рослин : методичні рекомендації до лабораторних занять [Електрон. ресурс] / Н. В. Загороднюк, Р. П. Мельник. – Вид. 2-ге, перероб. і доповн. – Електрон. текст. дані. – Херсон : ФОП Вишемирський В. С., 2019. – 100 с. – Режим доступу: <http://ekhsuir.kspu.edu/handle/123456789/13131>, вільний (дата звернення: 29.06.2022). – Назва з екрана.

3. Крупа Н. М. Фізіологія рослин : Методичні вказівки до виконання практичних занять та самостійної роботи для здобувачів вищої освіти агробіотехнологічного факультету спеціальності 206 – Садово-паркове господарство, освітній рівень – бакалавр [Електрон. ресурс] / Н. М. Крупа, А. Б. Марченко, О. Г. Олешко. – Електрон. текст. дані. – Біла Церква, 2021. – 81 с. – Режим доступу: <http://rep.btsau.edu.ua/handle/BNAU/7205>, вільний (дата звернення: 29.06.2022). – Назва з екрана.

4. Перерва В. В. Лабораторний практикум з фізіології та захисту рослин для студентів спеціальності 101 Екологія / В. В. перерва. – Кривий Ріг : КДПУ, 2021. – 50 с.

5. Тарнопільська О. М. Фізіологія рослин: конспект лекцій (для студентів денної та заочної форм навчання освітнього рівня «бакалавр» за спеціальністю 206 – Садово-паркове господарство) [Електрон. ресурс] / О. М. Тарнопільська; Харків. нац. ун-т міськ. госп-ва ім. О. М. Бекетова. – Електрон. текст. дані. – Харків : ХНУМГ ім. О. М. Бекетова, 2019. – 159 с. – Режим доступу: <https://eprints.kname.edu.ua/51778/>, вільний (дата звернення: 29.06.2022). – Назва з екрана.

6. Методичні рекомендації до виконання розрахунково-графічної роботи з навчальної дисципліни «Фізіологія рослин» (для студентів денної і заочної форм навчання спеціальності 206 – Садово-паркове господарство) [Електрон. ресурс] / уклад. О. М. Тарнопільська; Харків. нац. ун-т міськ. госп-ва ім. О. М. Бекетова.

– Електрон. текст. дані. – Харків : ХНУМГ ім. О. М. Бекетова, 2019. – 22 с. –
Режим доступу: <https://eprints.kname.edu.ua/52199/1/2018%20%D0%B%D0%B5%D1%87.%20108%D0%9C%20.pdf>, вільний (дата звернення:
29.06.2022). – Назва з екрана.

Електронне навчальне видання

Методичні рекомендації до проведення лабораторних робіт
з навчальної дисципліни

«ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН»

*(для здобувачів першого (бакалаврського) рівня вищої освіти денної форми
навчання зі спеціальності 206 – Садово-паркове господарство)*

Укладач **СОКОЛЕНКО** Уляна Михайлівна

Відповідальний за випуск *Н. О. Олексійченко*
За авторською редакцією
Комп'ютерне верстання *У. М. Соколенко*

План 2022, поз. 153М

Підп. до друку 20.07.2022. Формат 60 × 84/16.
Ум. друк. арк. 5,3.

Видавець і виготовлювач:
Харківський національний університет
міського господарства імені О. М. Бекетова,
вул. Маршала Бажанова, 17, Харків, 61002.
Електронна адреса: office@kname.edu.ua
Свідоцтво суб'єкта видавничої справи:
ДК № 5328 від 11.04.2017.