

**Східноєвропейський національний університет
імені Лесі Українки
Біологічний факультет
*Кафедра ботаніки і методики викладання
природничих наук***

А. С. Машевська, Т. М. Єрмейчук, В. О. Голуб

ФІЗІОЛОГІЯ ТА БІОХІМІЯ РОСЛИН

Методичні рекомендації до виконання лабораторних
робіт для студентів денної та заочної форми
спеціальності 091 «Біологія» біологічного факультету

Луцьк

2019

УДК 581.1(072)
М-38

Рекомендовано до друку науково-методичною радою Східноєвропейського національного університету імені Лесі Українки (протокол № 6 від 20 лютого 2019 р.).

Рецензенти:

М.І. Зінчук – директор Волинської філії ДУ « Інститут охорони ґрунтів України », кандидат сільськогосподарських наук;

О.Р. Дмитроца – кандидат біологічних наук, доцент кафедри фізіології людини і тварин Східноєвропейського національного університету імені Лесі Українки

Машевська А. С., Єрмейчук Т. М., Голуб В. О.

М-38 Фізіологія та біохімія рослин: Методичні рекомендації до виконання лабораторних робіт для студентів денної та заочної форми спеціальності 091 «Біологія» біологічного факультету / Алла Степанівна Машевська, Тамара Музаффарівна Єрмейчук, Валентина Олександрівна Голуб. – Луцьк : Вежа-Друк, 2019. – 64 с.

В методичних рекомендаціях представлено лабораторні роботи, що висвітлюють основні розділи програми курсу «Фізіологія та біохімія рослин». До кожного заняття подається коротке пояснення теоретичного матеріалу, детально описана методика постановки досліду. Виконання завдань, поставлених у методичних рекомендаціях, допоможе оволодіти студентам сучасними методами науково-дослідної роботи.

Для студентів денної та заочної форм навчання біологічних факультетів університетів.

УДК 581.1(072)

© Машевська А.С., 2019

© Єрмейчук Т.М., 2019

© Голуб В.О., 2019

© Східноєвропейський національний університет імені Лесі Українки, 2019

ЗМІСТ

Лабораторна робота №1. Якісне визначення цукрів, жирів та білків у рослинному матеріалі.....	6
Лабораторна робота №2. Рослинна клітина як осмотична система. Явище плазмолізу і деплазмолізу.....	9
Лабораторна робота №3. Визначення величини осмотичного тиску вакуолярного соку живих рослинних клітин плазматичним методом.....	11
Лабораторна робота №4. Визначення всисної сили клітин спрощеним методом (за Уршпрунгом).....	13
Лабораторна робота № 5. Залежність всисної сили від ступеня насичення клітин водою (побудова графіку).....	16
Лабораторна робота № 6. Будова та рухи продихів.....	18
Лабораторна робота № 7. Визначення показників транспіраційного процесу – інтенсивності та відносної транспірації.....	20
Лабораторна робота № 8. Явище гутації. Вплив умов навколишнього середовища на гутацію у рослин.....	23
Лабораторна робота № 9-10. Визначення впливу гетероауксину на ріст коренів. Знімання результатів дослідження.....	25
Лабораторна робота № 11. Фізичні та хімічні властивості хлорофілу.....	27
Лабораторна робота № 12. Розділення пігментів зеленого листка методом паперової хроматографії.....	29
Лабораторна робота №13. Визначення кількісного вмісту хлорофілів у витяжці.....	31
Лабораторна робота №14. Фотосенсибілізуюча дія хлорофілу на реакцію перенесення водню.....	34
Лабораторна робота №15. Визначення інтенсивності фотосинтезу методом асиміляційної колби (за Л.О. Івановим і Н.А. Косовичем).....	36

Лабораторна робота №16-17. Визначення втрати сухої речовини під час проростання насіння. Знімання результатів дослідження.....	38
Лабораторна робота №18. Визначення інтенсивності дихання за кількістю виділеної вуглекислоти (за методом П. Бойсен-Ієнсена).....	41
Лабораторна робота №19. Мікрохімічний аналіз попелу рослин.....	43
Лабораторна робота №20. Кислотний гідроліз крохмалю.....	46
Лабораторна робота №21. Вивчення активності каталази у рослинах....	48
Лабораторна робота №22. Виявлення дегідрогеназ у рослинних об'єктах.....	50
Лабораторна робота №23. Визначення кількісного вмісту нітратів у різних рослинних об'єктах.....	53
Лабораторна робота №24. Вплив концентрації розчину солей на проростання насіння.....	55
Лабораторна робота №25. Виявлення захисної дії цукрів на цитоплазму клітин при низьких температурах.....	57
Додатки	60

Методичні рекомендації розроблені для студентів, які вивчають загальний курс фізіології та біохімії рослин, вони включають лабораторні роботи з усіх основних розділів програми.

Основне завдання видання – познайомити студентів з методами дослідження в області фізіології та біохімії рослин. В посібнику дані теоретичні основи і практичні завдання з основних розділів фізіології рослин: водного обміну, фотосинтезу, дихання, мінерального живлення, росту і розвитку, стійкості рослин.

Студенти знайомляться з показниками стану води у рослині, осмотичними явищами та транспірацією, з пігментами і основними функціями фотосинтетичного апарату, із значенням процесу дихання та альтернативністю дихальних шляхів, вивчають процеси поглинання іонів і їх вплив на стан та функціонування рослинного організму, закономірності росту, адаптивні можливості рослин.

Для кожної роботи дається коротке теоретичне пояснення, перелік матеріалів та обладнання, методика виконання роботи, вказівки по оформленню результатів роботи (форми таблиць, графіків, формули для розрахунків). До кожної роботи подані питання, направлені на осмислення матеріалу.

При виконанні завдань лабораторних робіт записи у зошитах роблять за наступною схемою: 1) назва роботи; 2) мета; 3) обладнання та матеріали; 4) короткі теоретичні відомості; 5) хід роботи; 6) результати; 7) висновки.

Лабораторна робота №1

Тема: Якісне визначення цукрів, жирів та білків у рослинному матеріалі

Мета: Ознайомитись з деякими методами якісного визначення вуглеводів, білків і жирів. Оцінити вміст цих речовин у різних рослинних об'єктах.

Натуральні об'єкти: бульба картоплі, насіння злакових, бобових та олійних культур, плоди винограду, горохове і пшеничне борошно.

Реактиви: 20%-ний розчин HCl, розчин судану III, 10%-ний розчин $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 10%-ний розчин NaOH, 1%-ний розчин CuSO_4 , розчин Фелінга.

Обладнання: пробірки в штативах, хімічні склянки, колби, фарфорові ступки, скальпелі, предметні та покривні скельця, мікроскопи, лійки, колби, фільтрувальний папір, електроплитка.

Теоретичні відомості

У живому рослинному організмі внаслідок обміну речовин безперервно відбувається утворення, перетворення і розклад органічних речовин.

Вуглеводи – найбільш поширені органічні речовини у рослині. Загальна формула $\text{C}_n(\text{H}_2\text{O})_n$. Вуглеводи поділяються на прості і складні. Прості вуглеводи, або моноцукри (глюкоза, фруктоза, рибоза та ін.), не гідролізуються. Складні вуглеводи є ди-, три- і полісахаридами (сахароза, рафіноза, крохмаль, клітковина та ін.). Під час гідролізу вони розщеплюються на прості.

Основним запасним вуглеводом є крохмаль, який виявляється за допомогою йоду. У деяких рослин, як запасуючі, відкладаються розчинні цукри. Це редукуючі, тобто такі, що мають вільну альдегідну і кетонну групи цукри, у зв'язку з чим володіють відновною здатністю моно- і дисахариди, а також нередукуючі цукри (сахароза).

Ліпіди – велика група органічних речовин, до складу яких входять жири і ліпоїди. Ліпіди не розчиняються у воді, утворюючи з нею емульсії різної стійкості. Жири є сполуками триатомного спирту гліцерину і жирних

кислот. Інтенсивне утворення жирів відбувається під час утворення насіння і плодів. При проростанні насіння жири енергійно розщеплюються.

Білки – це азотовмісні високомолекулярні органічні сполуки, що мають пептидні зв'язки і під час гідролізу розщеплюються до амінокислот. У рослинах багато білка міститься у насінні, особливо бобових та олійних культур.

Хід роботи:

Завдання 1. Провести якісне визначення простих і складних вуглеводів у рослинних тканинах.

а) Виявлення крохмалю.

Зробити тонкі зрізи з насіння бобових, злакових і бульби картоплі. Помістити їх на предметне скло і змочити розчином J в KJ. По інтенсивності синього забарвлення зробити висновок про кількісний вміст крохмалю у різних органах рослин.

б) Виявлення моноцукрів (глюкози, фруктози).

Наважку рослинного матеріалу (2-3г) подрібнити, покласти у пробірку, долити 10 мл води і кип'ятити протягом 5 хв. Після кип'ятіння витяжку профільтрувати і розлити у 2 пробірки. В першу пробірку до витяжки долити однаковий об'єм реактив у Фелінга і нагріти до кипіння. В другу пробірку до фільтрату додати 3-4 краплі 20%-ний HCl і прокип'ятити протягом 1 хв., щоб гідролізувати сахарозу. Пізніше кислоту в пробірці нейтралізувати содою, долити реактив Фелінга і знову нагріти до кипіння.

В обох пробірках відбувається відновлення оксиду міді (II) до оксиду міді (I) в результаті окиснення гексоз. Оксид міді (I) випадає у вигляді осаду червоного кольору і його кількість свідчить про вміст редуруючих цукрів у досліджуваному матеріалі.

Вміст крохмалю оцінити за інтенсивністю забарвлення (синього), а редууючих цукрів – за кількістю утвореного осаду оксиду міді (I) за 4 – бальною шкалою.

Результати записати у таблицю:

Об'єкт	Вміст речовин у балах		
	Крохмаль	Редукуючі цукри	
		до гідролізу	після гідролізу

Завдання 2. Провести якісне виявлення жирів у рослинному матеріалі.

Для цього зробити зрізи пророслої насінини кукурудзи і помістити його в краплину розчину судану III на предметне скло і витримати 10-20 хв. Потім зрізи перенести у гліцерин і розглянути під мікроскопом. При наявності жирів рослинний матеріал зафарбовується в яскраво-оранжевий колір.

Зробити висновок, в якій частині насінини (зародку, ендоспермі) наявні жири.

Завдання 3. Провести якісне виявлення білка у рослинному матеріалі (біуретова реакція).

Для цього 3 г горохової (пшеничної) муки висипати в колбу, долити 20 мл 10 %-ого розчину $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, закрити колбу корком і збовтувати протягом 3 хв. Потім вміст колби профільтрувати. До одержаного фільтрату додати 5мл 10%-ого розчину NaOH, а потім 1-2 краплини 1%-ний розчину CuSO_4 . Осад гідроксиду міді (II), що при цьому утворюється, при наявності білка розчиняється і забарвлює розчин у фіолетовий колір.

Контрольні питання:

1. На які основні групи поділяються вуглеводи і яке значення вони мають у житті рослин?
2. Що таке відновлюючі (редуючі) цукри? Які вуглеводи належать до цієї групи?
3. Яка хімічна природа рослинних жирів? Яке значення вони мають у житті рослин?
4. Яка хімічна природа білків та яка їх роль у рослинних організмах?

Лабораторна робота №2

Тема: Рослинна клітина як осмотична система. Явище плазмолізу і деплазмолізу

Мета: З'ясувати ознаки і причини процесів плазмолізу і деплазмолізу.

Натуральні об'єкти: цибулини синьої цибулі.

Реактиви: 8%-ний розчин NaCl.

Обладнання: мікроскопи, предметні та покривні скельця, фільтрувальний папір, скальпелі, скляні палички, хімічні склянки, електроплитка.

Теоретичні відомості

Пограничні мембрани цитоплазми (плазмолема і тонопласт) мають обмежену і вибірккову проникність. Зокрема, через них легко проходять молекули води. Ця властивість називається напівпроникністю, а рух розчинника через напівпроникні мембрани – осмосом.

При зануренні клітин в гіпертонічні розчини плазмолітиків виникає осмотичний тиск води з клітин, об'єм вакуолі зменшується. Еластична цитоплазма скорочується вслід за вакуолею, клітинна оболонка втрачає напружений стан, але не скорочується, через це між нею і протопластом виникає простір, заповнений зовнішнім розчином. Такий стан клітини називається плазмолізом. При заміні гіпертонічного розчину водою вона починає поступати у вакуолю – проходить деплазмоліз клітини, вона починає повертатись у тургорний стан.

Хід роботи:

Завдання 1. Спостереження за неплазмолізованими клітинами епідермісу.

Зробити зріз епідермісу луски цибулі, клітини якого містять антоціан. Помістити зріз в краплю води на предметне скло, накрити покривним і розглянути в мікроскоп. Замалювати клітину епідермісу в тургесцентному стані.

Завдання 2. Спостереження за явищем плазмолізу.

Замінити воду на 8%-ний розчин NaCl. Для цього нанести на предметне скло поряд з покривним велику краплю розчину, а воду відсмоктати фільтрувальним папером. Під мікроскопом розглянути мікропрепарат. Коли плазмоліз буде добре помітний, зробити схематичні малюнки клітин, показавши ступінь і форму плазмолізу, основні структури клітини та напрям осмотичного току води (додатки, рис.1).

Завдання 3. Спостереження за явищем деплазмолізу.

Ввести під покривне скло мікропрепарату краплю води, відсмоктуючи розчин NaCl фільтрувальним папером.

Під мікроскопом спостерігати за змінами, що проходять в клітинах, описати і пояснити їх.

Замалювати стан клітин через 5-7 хвилин, позначивши основні структури клітин та напрям осмотичного току води.

Завдання 4. Вплив термічної обробки на хід плазмолізу.

Епідерміс луски цибулини прокип'ятити у воді 2-3 хвилини. На предметне скло нанести краплю 8%-ого розчину NaCl і помістити в неї шкірку. Накрити покривним склом. Розглянути в мікроскопом і встановити, чи проходить плазмоліз. Дати відповідні пояснення.

На основі спостережень зробити висновки про механізм явищ плазмолізу і деплазмолізу.

Контрольні питання:

1. Чим зумовлюється і яке значення має напівпроникність цитоплазми в житті клітини?
2. Охарактеризуйте напрям градієнту хімічного потенціалу води між клітиною і зовнішнім розчином при плазмолізі та деплазмолізі рослинних клітин.
3. Яка відміна між проникністю клітинної оболонки і цитоплазматичних мембран?

4. Які розчини використовують для спостереження явищ плазмолізу та деплазмолізу? Чому?

5. Чим заповнений простір між клітинною оболонкою і плазмолізованим протопластом? Чому?

6. Чи може проходити плазмоліз у неживих клітинах? Чому плазмоліз клітин використовують для діагностики ступеня пошкодження рослин під дією несприятливих факторів середовища?

Лабораторна робота № 3

Тема: Визначення величини осмотичного тиску вакуолярного соку живих рослинних клітин плазмолітичним методом

Мета: Засвоїти фізичний зміст плазмолітичного методу визначення осмотичного тиску вакуолярного соку і навчитись практично використовувати цей досвід.

Натуральні об'єкти: цибулина синьої цибулі, елодея.

Реактиви: 1,0 М розчин сахарози, дистильована вода.

Обладнання: пробірки в штативах (по 11 у кожному), предметні та покривні скельця, мікроскопи, скляні палички, скальпелі, препарувальні голки.

Теоретичні відомості

Осмотичний тиск – це тиск, який треба прикласти до системи, щоб припинити поступання води в неї через напівпроникну мембрану.

Принцип методу ґрунтується на емпіричному підборі зовнішнього розчину відомої концентрації, осмотичний тиск якого рівний величині осмотичного тиску клітинного соку. Найбільш близьким до ізотонічного буде той розчин, в якому найменший ступінь плазмолізу клітин (кутовий плазмоліз). Для розрахунку осмотичного тиску вакуолярного соку як ізотонічна концентрація береться середня величина між концентраціями найближчих гіпотонічного і гіпертонічного розчинів.

$$\pi^* = RTCi, \text{ де:}$$

π^* – осмотичний тиск (атм);

R – постійна газова стала, яка дорівнює 0,0821 л · атм/град · моль;

T – абсолютна температура (273°C + t°C);

C – ізотонічна концентрація в молях;

i – ізотонічний коефіцієнт.

Хід роботи:

Завдання 1. Закласти дослід на викликання плазмолізу в клітинах. Для цього 7 пробірок заповнити розчинами сахарози різних концентрацій: 1М, 0,8М, 0,6М, 0,4М, 0,2М, 0,1М і дистильованою водою. В кожну з цих пробірок з інтервалом у 2 хвилини закласти по кусочку епідермісу цибулі і кусочок листка елодеї. Залишити препарати на 20 хвилин для настоювання.

Завдання 2. Після 20-хвилинного витримання зрізів у розчинах їх вийняти, покласти на предметне скло в краплину того самого розчину, накрити покривним скельцем і розглянути під мікроскопом. Встановити, при якій концентрації настає початкова стадія плазмолізу. Визначивши ступінь плазмолізу клітин у кожному розчині, знайти ізотонічну концентрацію – як середнє арифметичне між концентрацією, при якій плазмоліз ще не спостерігається, і концентрацією, яка його викликає.

Завдання 3. Визначити ізотонічну концентрацію для кожного виду рослин, обчислити величини осмотичного тиску вакулярного соку за рівнянням Вант-Гоффа:

$$\pi^* = RTCi, \text{ де:}$$

π^* – осмотичний тиск (атм);

R – постійна газова стала (0,0821 л · атм/град · моль);

T – абсолютна температура (273°C + t°C);

C – ізотонічна концентрація (М);

i – ізотонічний коефіцієнт (для сахарози i = 1).

Замалювати форми плазмолізу, які спостерігаються при різних концентраціях сахарози.

Визначити осмотичний тиск для всіх концентрацій розчину сахарози.

Результати записати у таблицю:

Концентрація сахарози, М	% плазмолізованих клітин		Вигляд плазмолізованих клітин		Осмотичний тиск, атм	
	цибуля	елодея	цибуля	елодея	цибуля	елодея
1,0						
0,8						
0,6						
0,4						
0,2						
0,1						
Дистильована вода						

На основі аналізу одержаних даних зробити висновки про величину осмотичного тиску вакуолярного соку у рослин різних екологічних груп.

Контрольні питання:

1. Що таке осмотичний потенціал, осмотичний тиск?
2. Як обчислюється величина осмотичного тиску? Для чого у формулу вводиться ізотонічний коефіцієнт?
3. У чому суть плазмолітичного методу визначення величини осмотичного тиску?
4. Чому розчини електролітів у порівнянні з неелектролітами мають більший осмотичний тиск?
5. У яких рослин більший осмотичний тиск клітинного соку: у тих, що виростили у вологому затіненому місці чи тих, що ростуть у степу? Як пояснити ці відмінності?

Лабораторна робота № 4

Тема: Визначення всисної сили клітин спрощеним методом (за Уршпрунгом)

Мета: Визначити величину всисної сили клітин рослинного об'єкта, встановити величину тургорного тиску клітин в залежності від ступеня їх

оводненості.

Натуральні об'єкти: бульби картоплі.

Реактиви: 1М розчин NaCl, дистильована вода.

Обладнання: ніж, скальпелі, пінцети, пробірки в штативах, лійки, мірні циліндри (пробірки), олівець по склу, лінійки.

Теоретичні відомості

Поступання води в клітину визначається її всисною силою S , яка залежить від ступеня насичення клітини водою. В стані початкового плазмолізу (повне в'янення) тургорний тиск відсутній і всисна сила клітини дорівнює її осмотичному тиску ($P=0$; $S=\pi^*$). При зануренні клітин у воду тургорний тиск досягає максимальної величини, а всисна сила падає до нуля ($P=\pi^*$, $S=0$).

Визначення всисної сили даним методом здійснюється шляхом підбору ізотонічного розчину, в якому не відбувається ні втрати, ні поглинання води клітинами, і на вимірюванні розмірів шматочків рослинної тканини, занурених у розчини відомої концентрації: при зануренні шматка тканини у розчин, всисна сила якого більша всисної сили клітин, розчин забирає воду від клітин і їх розміри зменшуються. Якщо S клітин більша S розчину, то клітини всмоктують воду і збільшуються. При зрівноваженні всисної сили клітин та розчину розміри клітин не змінюються.

Хід роботи:

Завдання 1. Виготовити розчини NaCl наступних концентрацій: 0,8М; 0,6М; 0,4М; 0,2М; 0,1М об'ємом 10 мл кожний. Налити їх у 5 пробірок, у шосту – 1,0М розчин NaCl, а у сьому – воду.

Вирізати з бульби картоплі пластинку товщиною 3-4 мм, а з неї - прямокутник завширшки 20-30 мм і завдовжки 30-70 мм. Розрізати його вздовж на сім однакових смужок шириною 2-3 мм, виміряти їх довжину з точністю до 0,5 мм і занурити одну у воду, а інші - у виготовлені розчини

(занурення повинно бути повним). Виготовляти і вимірювати смужки потрібно швидко, не допускаючи в'янення матеріалу.

Завдання 2. Через 20-30 хв. пінцетом вийняти смужки тканини з розчинів, просушити фільтрувальним папером і повторно виміряти їх довжину.

Записати результати в таблицю:

Концентрація NaCl, моль/л	1,0	0,8	0,6	0,4	0,2	0,1	0
Всисна сила розчину, МРа							
Довжина смужки, мм	вихідна						
	після перебування в розчині						
Різниця, мм							
Тургор							

У другій графі таблиці записати величину всисної сили розчинів, яка чисельно рівна їх осмотичному тиску, обчисленого за формулою Вант-Гоффа: $S = \pi^* = RTCi$.

Дані для 5-ї графі знайти як різницю між більшою і меншою величинами, причому збільшення довжини позначити знаком "+", а зменшення – знаком "-". В останній графі відмітити силу тургору тканини (сильний, середній, слабкий) чи його відсутність. Для визначення цього показника смужки розмістити на підставці так, щоб вони наполовину звисали з її краю.

Встановити, який із розчинів є ізотонічним і визначити величину всисної сили клітин досліджуваного об'єкту.

Пояснити причини зміни розмірів смужок у розчинах різної концентрації.

Контрольні питання:

1. Яке рівняння відображає взаємозв'язок між всисною силою клітин, тургорним та осмотичним тиском?
2. Як змінюється величина всисної сили, тургорного і осмотичного

тиску при зміні ступеня оводненості рослинної клітини?

3. Яка причина зміни довжини шматочків тканини у розчинах різної концентрації?

4. Яка форма води в клітині – вільна чи зв'язана – визначає величину тургорного тиску?

Лабораторна робота № 5

Тема: Залежність всисної сили від ступеня насичення клітин водою. Побудова графіку.

Мета: На основі результатів, отриманих у попередній роботі, побудувати діаграму взаємозалежності всисної сили (S), осмотичного тиску клітинного соку (π^*) і тургорного тиску (P) при зміні ступеня насичення клітин водою.

Матеріали та обладнання: міліметровий папір, лінійки.

Теоретичні відомості

Всисна сила клітин визначається різницею осмотичного і тургорного тисків

$S = \pi^* - P$. В стані початкового плазмолізу тургорний тиск відсутній, всисна сила дорівнює її осмотичному тиску ($P = 0, S = \pi^*$). При зануренні клітин у воду тургорний тиск досягає максимальної величини, а всисна сила падає до нуля ($P = \pi^*, S = 0$).

Якщо до занурення в розчин всі клітини мали більш менш однаковий ступінь насичення водою, а отже, і однакові S, P, π^* , то після перебування клітин у розчинах всі ці показники для різних смужок стали різними.

Хід роботи:

Завдання 1. Заповнити форму, в яку записати показники, що характеризують стан клітини після перебування у розчинах різної концентрації (з таблиці попередньої лабораторної роботи).

Концентрація розчинів, моль/л.	0	0,1	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0
Довжина смужки L, мм							
Всисна сила S, МПа							
Осмотичний тиск π^* , МПа							
Тургорний тиск P, МПа							

а) Довжина смужок (L). Записати довжину смужок після перебування тканини в розчинах, починаючи з найменшої концентрації.

б) Всисна сила (S). Виходячи з того, що смужки досить довго пролежали в розчинах і перестали змінюватись по довжині, можна вважати, що всисна сила клітин зрівнялась з всисною силою зовнішніх розчинів. Виписати величини всисної сили з таблиці з попередньої лабораторної роботи.

в) Осмотичний тиск клітинного соку (π^*). Для найкоротшої смужки характерна повна відсутність тургору: $P_1=0$, звідки $(S = \pi^* - P) \pi^* = S_1$. Інші смужки мають все більш розбавлений сік, причому π^* зменшується обернено пропорційно довжині смужок (об'єму клітини).

$$\pi_1 L_1 = \pi^* L_n, \text{ звідки } \pi^*_n = \pi_1 L_1 / L_n$$

г) Тургорний тиск (P) знайти за формулою $S = \pi^* - P$, звідки $P = \pi^* - S$.

Завдання 2. Побудувати графік зміни всисної сили, осмотичного і тургорного тиску залежно від ступеня оводненості клітини (розмірів рослинної тканини).

Накреслити систему координат. На осі абсцис відкласти, витримуючи масштаб (1мм смужки відповідає 1см на осі X), довжину смужки L. Точку перетину осей позначити L_1 . На осі ординат відкласти значення π^* , P, S.

π^* , P, S
(MPa)



L, мм

На основі побудованої діаграми зробити висновок про зміну π^* , P і S залежно від насичення клітин водою.

Лабораторна робота № 6

Тема: Будова та рухи продихів

Мета: Вивчити будову та гідроактивну реакцію продихів. Визначити стан продихів рослин різних видів методом інфільтрації (за Молішем).

Натуральні об'єкти: листки різних видів рослин.

Реактиви: 5%-ний розчин гліцерину, ксилол, бензол, етиловий спирт.

Обладнання: мікроскопи, предметні і покривні скельця, ножиці, пінцети, піпетки, препарувальні голки.

Теоретичні відомості:

Транспірація – фізіологічний процес випаровування води рослиною, яка здійснюється через продихи, які складаються із двох замикаючих клітин та продихової щілини. Гідроактивна реакція полягає у залежності ступеня відкритості продихів від вмісту води в замикаючих клітинах: чим більше води, тим ширша продихова щілина. Для в'яснення руху продихів у роботі

використовується плазмолітик II роду гліцерин. В перший момент його гіпертонічний розчин викликає плазмоліз клітин. Якщо це замикаючі клітини продиху, то в результаті падіння тургорного тиску кривизна їх зменшиться і продихова щілина буде замикатися. По мірі проникнення плазмолітика в клітинні вакуолі і зниження градієнта концентрації між клітинним соком і зовнішнім розчином ступінь плазмолізу клітин зменшиться, об'єм їх збільшиться і відповідно стане відкриватись продихова щілина. Якщо замінити розчин плазмолітика водою, то швидко наступає максимальне розширення продихової щілини.

Для визначення стану продихів користуються методом інфільтрації (за Молішем). Він базується на різному ступені проникності (інфільтрації) хімічних речовин крізь відкриті продихи.

Хід роботи:

Завдання 1. Вивчити гідроактивну реакцію продихів. Виготовити мікропрепарати нижнього епідермісу листків традесканції (свіжих і прив'ялих), та помістити його у краплину води. Знайти продихи, замалювати і описати їх стан.

Відсмоктати воду фільтрувальним папером і замінити її 5%-ним розчином гліцерину. Які рухи продихів спостерігаються? Чому? Які зміни відбуваються через 20 хвилин? Після цього замінити гліцерин водою, для цього з однієї сторони покривного скельця нанести краплину води, а з іншої відсмоктати гліцерин фільтрувальним папером. Описати, як зміниться стан продихів і пояснити ці зміни (додаток, рис.5).

Завдання 2. Визначити стан відкритості продихів різних видів рослин (за Молішем).

Розкласти листки на столі нижньою стороною листової пластинки і обережно піпеткою нанести по краплині бензолу, ксилолу і спирту таким чином, щоб вони не змикалися між собою. Коли рідини повністю випаруються з поверхні листка чи проникнуть всередину нього, розглянути листки на світлі.

Оцінка проникнення рідин через продихи в міжклітинники – ступінь інфільтрації тканини листка, дається за ступенем прозорості листка.

Чим більше повітря витіснено рідиною, тим більш прозорим буде листок. Бензол проникає через середньо відкриті продихи, етиловий спирт – через широко відкриті, ксилол – через слабо відкриті.

Вияснити ступінь відкритості продихів у різних рослин. Результати записати в таблицю:

Рослина	Проникнення рідини (+ чи -)			Ступінь відкритості продихів
	ксилол	бензол	етиловий спирт	

Зробити висновки про механізм гідроактивної реакції продихів у досліджуваних рослин.

Завдання 3. Оцінка стану продихів різних видів рослин методом Ллойда.

Зняти з нижньої сторони листків трьох видів рослин шматочки епідермісу і помістити їх в краплину етилового спирту на предметні скельця. Через 1-2 секунди розглянути препарати під мікроскопом. Замалювати стан продихів, оскільки при миттєвій фіксації клітин етиловим спиртом зберігається у тому числі й форма замикаючих клітин продиху.

Контрольні питання:

1. Які види транспірації Ви знаєте? Поясніть різницю механізмів продихової та кутикулярної транспірацій.
2. Яка будова продихового апарату у однодольних та дводольних рослин?
3. Які види реакцій продихів Ви знаєте? В чому їх суть?
4. Які фактори впливають на відкривання та закривання продихів?

Лабораторна робота № 7

Тема: Визначення показників транспіраційного процесу – інтенсивності та відносної транспірації

Мета: Засвоїти один з простих методів визначення величин транспірації – інтенсивності та відносної транспірації.

Натуральні об'єкти: листки дослідних рослин.

Обладнання: торсійні та технічні ваги, різноважки, чашки Петрі, міліметровий папір, лінійки.

Теоретичні відомості

Транспірація – процес випаровування води наземними частинами рослин, в основному листками. Інтенсивність транспірації – це кількість води, що випаровується за одиницю часу одиницею листової поверхні. У більшості рослин величина цього показника вдень становить від 150 до 2500 мг/дм²·год., а вночі – від 20 до 200 мг/дм²·год. Відношення інтенсивності транспірації до інтенсивності евапорації (випаровування з вільної водної поверхні) за тих же умов називається відотною транспірацією. Цей показник характеризує здатність рослин регулювати транспірацію і звичайно становить 0,1-0,5, а у рослин, добре захищених від втрат води, – 0,01.

Найбільш простий і досить точний метод обліку транспірації – метод швидкого зважування. Встановлене цим методом зменшення маси відповідає кількості випаруваної води.

Хід роботи:

Завдання 1. Визначити інтенсивність транспірації досліджуваних рослин. Для цього встановити торсійні ваги у вертикальному положенні (по рівню) і перевірити їх нульову точку. Зрізати листок з невеликим відрізком черешка, повільно покласти його на шальку, швидко зважити, записати час зрівноваження ваг та масу листка у таблицю.

Через 3-4 хв. зробити повторне зважування, також відмітити час, записати масу листка. Якщо випаровування іде повільно, можна продовжити

експозицію до 5хв.

Визначити площу дослідного листка з точністю до 1мм², використовуючи міліметровий папір. Дані занести у таблицю.

Завдання 2. Визначити відносну транспірацію досліджуваних рослин. Для цього визначити за тих же умов інтенсивність евапорації (вільного випаровування).

Для цього на технічних вагах зважити чашку Петрі, наповнену майже до країв водою кімнатної температури (зовнішня поверхня чашки повинна бути цілком сухою), і через 30 хв. зробити повторне зважування. Визначити кількість випаруваної води, як різницю між результатами першого та другого зважування.

Визначити випаровуючу поверхню, вимірявши внутрішній діаметр чашки, за формулою $S = \pi r^2$ ($S = \pi d^2 / 4$).

Дані занести у таблицю:

Об'єкт	Час зважування		Експозиція, год.	Маса, мг		Випарувано води, мг	Площа, дм ²
	I-го	II-го		I-а	II-а		
Листок Посудина з водою							

Завдання 3. За одержаними даними провести розрахунки.

Інтенсивність транспірації (I_m) обчислити за формулою:

$$I_m = \frac{m}{S \cdot t}$$

де, m – кількість випаруваної води, мг;

S – площа листкової пластинки, дм²;

t – час експозиції, год.;

Інтенсивність евапорації (I_e) обчислити за тією ж формулою.

За одержаними даними розрахувати величину відносної транспірації.

$$BT = \frac{Im}{Ie}$$

На основі величини відносної транспірації зробити висновок про регуляцію листком процесу транспірації, враховуючи, що транспіраційний процес вважається низьким, коли Im/Ie є меншим 0,5.

Контрольні питання:

1. Що таке транспірація і яка її роль у житті рослин?
2. Чим транспірація відрізняється від процесу випаровування з вільної водної поверхні?
3. Як пояснити, що при загальній невеликій площі продихових отворів (не більше 1% від площі листків) інтенсивність транспірації при сприятливих умовах водопостачання наближається до інтенсивності евапорації.
4. На якій підставі при розрахунку інтенсивності транспірації можна знехтувати величиною верхньої сторони листка? Для листків якого віку похибка буде найменшою?
5. Що таке інтенсивність транспірації, відносна транспірація, продуктивність транспірації, транспіраційний коефіцієнт? Які з них відображають взаємозв'язок транспіраційного процесу та фотосинтетичної функції?

Лабораторна робота № 8

Тема: Явище гутації. Вплив умов навколишнього середовища на гутацію рослин.

Мета: Провести спостереження за явищем гутації у різних видів рослин під впливом факторів навколишнього середовища.

Натуральні об'єкти: пророщені паростки пшениці, ячменю, жита та інших злаків.

Реактиви: 10%-ний розчин NaCl, сніг або подрібнений лід, гаряча

вода.

Обладнання: скляні ковпаки, чашки Петрі, електроплитка, термометр.

Теоретичні відомості

Коренева система не тільки всмоктує воду з ґрунту, але й активно нагнітає її в стебло з певною силою, яка називається кореневим тиском. Якщо кількість води, що нагнітається кореневим тиском, більша кількості води, що випаровується надземними органами, то спостерігається гутація – виділення краплини рідини (гути) на кінчиках листків. Функцію виділення рідини з тканин листків виконують гідатоци – водяні продири.

Умови, що забезпечують проходження гутації: низька інтенсивність транспірації, висока вологість ґрунту, нормальна діяльність кореневої системи.

Хід роботи:

Завдання 1. Вивчити вплив вологості повітря на процес гутації.

а) Середовище, на якому ростуть проростки, добре полити теплою водою (30°C). Склянку з молодими проростками пшениці помістити під скляний ковпак. Відмітити час появи краплин гути на кінцях проростків.

б) Середовище, на якому ростуть проростки, добре полити теплою водою (30°C). Склянку з молодими проростками пшениці помістити під скляний ковпак, попередньо помістивши туди склянку з гарячою водою (для підвищення вологості повітря в об'ємі ковпака). Відмітити час появи краплин гути на кінцях проростків.

Завдання 2. Вивчити вплив концентрації розчину на кореневу систему.

У чашку Петрі з проростками пшениці налити 5 мл 10% -го розчину NaCl, нагрітого до 30°C. Помістити проростки під скляний ковпак. Встановити вплив концентрації розчину на процес гутації.

Завдання 3. Вивчити вплив температури ґрунту на процес гутації.

У посудину з проростками пшениці заповнити снігом або подрібненим льодом та накрити скляним ковпаком. Відмітити швидкість появи краплин

гути на проростках пшениці та зафіксувати час.

Результати проведених досліджень занести у таблицю:

№ варіанту	Умови досліду	Час появи краплин
1	Під ковпаком, $t = 30^{\circ}\text{C}$	
2	Під ковпаком, $t = 30^{\circ}\text{C}$, атмосфера насичена гарячою водою	
3	Під ковпаком, 10%-ий NaCl	
4	Під ковпаком, $t = 0^{\circ}\text{C}$, (сніг або подріблений лід)	

Пояснити, чому інтенсивність гутації не однакова у різних варіантах досліду, спів ставити варіанти 1 та 4, 1 та 2, 2 та 3. зробити відповідні висновки. Замалювати проросток пшениці з краплиною гути.

Контрольні питання:

1. Які особливості має коренева система рослини у зв'язку з її функцією поглинання води із ґрунтового розчину?
2. Рушійні сили висхідного потоку води. Що таке гутація і «плач» рослини?
3. Які особливості водного режиму різних екологічних груп рослин?

Лабораторна робота № 9-10

Тема: Визначення впливу гетероауксину на ріст коренів. Знімання результатів досліду.

Мета: Встановити стимулюючу та гальмівну концентрації гетероауксину на ріст коренів різних рослинних об'єктів.

Натуральні об'єкти: насіння пшениці, жита, кукурудзи, ячменю.

Реактиви: 0,01%-ний розчин гетероауксину, дистильована вода.

Обладнання: чашки Петрі, мірні пробірки, фільтрувальний папір, колби.

Теоретичні відомості

Основний представник групи ауксинів – β -індолілоцтова кислота. Найбільше ІОК міститься в молодих ростучих меристематичних клітинах листків і бруньок, активному камбії, пилку, насінні. Ауксини рухаються по рослині полярно. Найяскравішим проявом фізіологічної дії ауксину є його вплив на ріст клітин у фазі розтягнення. Він контролює закладання коренів, цвітіння, утворення бульб і цибулин.

На клітинному рівні ІОК зв'язується зі специфічними рецепторами і впливає на функціональну активність мембран, полірибосом, роботу ядерного апарату.

Контроль над процесами росту і розвитку за допомогою ауксинів можливий, якщо концентрація його в клітині буде регулюватись. Рівновага синтезу ауксинів, їх окиснення і зв'язування – все це механізми чутливої системи регуляції концентрації ІОК, а отже і процесів росту.

Хід роботи:

Завдання 1. У 6 чашок Петрі покласти кружечки фільтрувального паперу. Папір зволожити 10 мл води (контроль) і розчинами гетероауксину (дослід) таких концентрацій: 0,01%; 0,001%; 0,0001%; 0,00001%; 0,000001%.

Завдання 2. На 3 Петрі розкласти по 20 зернівок досліджуваних рослин, закрити кришками і поставити у темряву при температурі 20-25°C.

Завдання 3. Через тиждень зняти результати дослідження, вимірявши і вичисливши величини, подані у таблиці:

Об'єкт	Варіанти дослідження	Сумарна довжина корінців, см	Середня довжина корінців на одну рослину, см	Довжина корінців, % до контролю
	Контроль: вода			
	Дослід: р-ни гетероауксину			
	0,01%			

0,001%			
0,0001%			
0,00001%			
0,000001%			

На основі одержаних результатів встановити стимулюючу та гальмівну концентрації гетероауксину на ріст коренів різних рослин.

Контрольні питання:

1. Яка хімічна природа гетероауксину?
2. Який механізм дії ауксину на ростові процеси?
3. Яке практичне значення має застосування гетероауксину в рослинництві?

Лабораторна робота № 11

Тема: Фізичні та хімічні властивості хлорофілу

Мета: Ознайомитися з деякими фізичними та хімічними властивостями хлорофілу, які зумовлені особливостями будови його молекули.

Натуральні об'єкти: листки дослідних рослин.

Реактиви: 20%-ний – розчин NaOH, 20%-ний – розчин HCl, 96%-ного етиловий спирт, бензин, ацетон, $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$.

Обладнання: фарфорові ступки з товчачиками, пробірки в штативах, мірні пробірки, вага, електроплитка, лійки, фільтрувальний папір.

Теоретичні відомості

Наявність у молекулі хлорофілу великої кількості активних хімічних груп зумовлює його значну реакційну здатність. При обробці хлорофілу лугом ефірні зв'язки омилюються, в результаті чого від його молекули відщеплюються спирти фітол і метанол та утворюється лужна сіль

хлорофілінової кислоти, яка зберігає зелене забарвлення.

Наявність у порфіриновому ядрі кон'югованої по колу системи десяти подвійних зв'язків і магнію зумовлюють характерний для хлорофілу зелений колір. При дії сильних кислот іон магнію заміщується на два протони, при цьому утворюється сполука феофітин, яка має бурий колір. Якщо на феофітин подіяти солями міді, то замість двох протонів у ядро входить метал, зворотно відновлюється металоорганічний зв'язок і знову з'являється зелене забарвлення.

Хлорофіл має здатність до флюоресценції. Це свічення речовин під час поглинання ними світла. Світло, що при цьому випромінюється, завжди має більшу довжину хвилі в порівнянні з поглинутим. Для хлорофілу характерна червона флюоресценція.

Хід роботи:

Завдання 1. Вивчити фізичні властивості хлорофілу – розчинність у різних розчинниках та здатність до флюоресценції.

Для цього розтерти 0,5 г зелених листків у фарфоровій ступці в 5мл води, настояти 5 хвилин і профільтрувати. Отримати так само спиртову, ацетонову та бензинову витяжки. Порівняти колір витяжок і зробити висновок про ступінь розчинності хлорофілу в різних розчинниках.

Спиртову витяжку хлорофілу настояти на яскравому світлі 10-15 хвилин. Для спостереження за явищем флюоресценції витяжку розглянути у відбитих променях. Для цього розмістити пробірку з витяжкою пігментів на чорному фоні та розглянути її зі сторони падаючого світла. Відмітити забарвлення розчину і зробити висновок про здатність хлорофілу до флюоресценції.

Завдання 2. Вивчити хімічні властивості хлорофілу – взаємодію з кислотами і лугами та здатність до окисно-відновних реакцій.

До 2 мл спиртової витяжки хлорофілу додати 4 краплини 20%-ного розчину HCl, перемішати. Як і чому змінився колір?

До одержаного у попередньому завданні розчину додати кілька

кристаликів оцтовокислої міді і нагріти. Які зміни відбулись? Чому?

До 2 мл спиртової витяжки пігментів додати 1 мл 20%-ного розчину лугу, нагріти до кипіння. Які зміни спостерігаються? До охолодженого розчину долити рівну за об'ємом кількість бензину, 2-3 мл води і перемішати. Утворюються два шари: в одному – жовті пігменти, в другому – лужна сіль хлорофілінової кислоти і вільні спирти – метиловий і фітол. Зробити малюнок, який характеризує процес розділення пігментів.

Зробити висновки про вивчені фізичні та хімічні властивості хлорофілу.

Записати рівняння проведених хімічних реакцій.

Контрольні питання:

1. До якого класу органічних сполук відноситься хлорофіл?
2. Які хімічні властивості характерні для хлорофілів?
3. У яких розчинниках найкраще розчиняються хлорофіли?
4. У чому сутність явища флюоресценції хлорофілу?
5. Які спектри поглинання характерні для хлорофілів вищих рослин? Чим відрізняються спектри поглинання хлорофілів а і в?

Лабораторна робота № 12

Тема: Розділення пігментів зеленого листка методом паперової хроматографії

Мета: Одержати паперову хроматограму пластидних пігментів зеленого листка та встановити їх локалізацію на ній.

Натуральні об'єкти: листки різних видів рослин.

Реактиви: ацетон, бензин, CaCO_3 .

Обладнання: фарфорові ступки з товчачиками, ножиці, ваги, хімічні склянки, мірні циліндри і пробірки, скляні палички, хроматографічний папір.

Теоретичні відомості

В основу методу покладено розподільну хроматографію, яка ґрунтується на різному розподілі компонентів суміші між двома фазами, що не змішуються, при цьому одна з фаз є рухомою, а інша – нерухомою. Твердий носій (хроматографічний папір) утримує на своїй поверхні нерухомих фазу розчинника (найчастіше воду). Інший органічний розчинник, що частково або зовсім не змішується з водою, є рухомих. Суміш речовин, яку треба розділити, наносять на хроматографічний папір і пропускають чистий рухомий розчинник. У зв'язку з тим, що різні речовини суміші мають різні коефіцієнти розподілу, під час хроматографування окремі компоненти захоплюються рухомих розчинником і переносяться з неоднаковою швидкістю. Тому різні речовини досліджуваної суміші відокремлюються одна від одної і розташовуються на різних ділянках у вигляді забарвлених плям.

Розділення пігментів у даній роботі ґрунтується на різній швидкості їх просування на папері з розчинником, що обумовлено різною адсорбцією їх хроматографічним папером і частково різною розчинністю в бензині.

Хід роботи:

Завдання 1. Виготовити ацетонову витяжку пігментів.

Для цього 1,0 г листків подрібнити ножицями, відкинувши крупні жилки і черешки, помістити в ступку, додати на кінчику скальпеля CaCO_3 , розтерти рослинний матеріал з крейдою, доливаючи порціями 10мл ацетону. Настояти витяжку 5хвилин, а потім відфільтрувати.

Завдання 2. З фільтрувального паперу вирізати смужку завширшки 1,5-2,0 см і завдовжки 20 см. Тримаючи паперову смужку вертикально, кінець її опустити на кілька секунд у витяжку пігментів, налиту в склянку. При короткочасному зануренні витяжка піднімається по паперу на 1,0-1,5 см. Потім папір підсушити на повітрі і знову занурити в розчин пігментів. Цю операцію повторити 5-7 разів до того часу поки біля верхньої межі поширення пігментів на папері утвориться яскрава зелена полоса. Після

цього нижній кінець паперової смужки на кілька секунд занурити в ацетон, щоб всі пігменти піднялися на 1,0-1,5 см.

Завдання 3. Смужку хроматографічного паперу добре висушити (до зникнення запаху ацетону), помістити її у вертикальному положенні в циліндр, на дно якого налитий бензин, так, щоб розчинник не торкався зони пігментів. Циліндр закрити корком. Через 5-15 хвилин розчинник підніметься на 10-12 см. Суміш пігментів при цьому розділиться на окремі компоненти у вигляді смуг, які розміщуються в такому порядку: перший знизу хлорофіл *b*, над ним хлорофіл *a*, потім ксантофіл і найвище – каротин.

Після закінчення хроматографування хроматограму вийняти з циліндра, висушити, підписати назву пігментів, звернувши увагу на їх забарвлення.

Записати емпіричні формули пігментів, обчислити їх молекулярні маси.

Контрольні питання:

1. На чому базується метод паперової хроматографії?
2. В якому співвідношенні у рослинному організмі наявні хлорофіл *a* і *b*?
3. Чому хлорофіл *a* вважається базовим пігментом фотосинтезу? Яка роль хлорофілу *b* у рослинному організмі?
4. Хлорофіли є головними пігментами хлоропласта. У чому роль допоміжних пігментів – каротиноїдів?

Лабораторна робота № 13

Тема: Визначення кількісного вмісту хлорофілів у витяжці

Мета: Визначити сумарну кількість хлорофілів у рослинному матеріалі за допомогою кольорової шкали стандартного розчину.

Натуральні об'єкти: листки різних видів рослин.

Реактиви: CuSO_4 , $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, 7%-ний водний розчин аміаку, 96%-ий етиловий спирт.

Обладнання: мірні колби на 100 мл, мірні циліндри і пробірки, мірні піпетки, фарфорові ступки з товчачиками, лійки, фільтрувальний папір, хімічні склянки, ножиці, ваги.

Теоретичні відомості

Зелені пігменти – хлорофіли відіграють важливу роль у процесі фотосинтезу, оскільки вони є первинними акцепторами сонячної енергії. Вміст хлорофілів залежить від багатьох факторів: систематичного положення, етапу онтогенезу, умов освітлення, мінерального живлення, температури. Від кількісного вмісту хлорофілів у значній мірі залежить інтенсивність фотосинтезу. Концентрація пігментів у витяжці зумовлює інтенсивність її забарвлення. За забарвленням можна визначити кількість хлорофілів. Для цього треба підібрати розчини забарвленої речовини або їх суміші, що служать за стандарти чи еталони для такого визначення. Забарвлення еталону повинно відповідати певній кількості пігментів, що визначаються.

Хід роботи

Завдання 1. Виготовити еталонну суміш Петрі для кількісного визначення хлорофілів.

Для цього приготувати окремо три розчини:

- 1) 1 г мідного купоросу розчинити у 100 мл дистильованої води;
- 2) 2 г біхромату калію розчинити у 100 мл дистильованої води;
- 3) 7%-ний розчин аміаку.

Потім у мірну колбу на 100 мл налити 28,5 мл розчину мідного купоросу, 50 мл розчину біхромату калію, 10 мл розчину аміаку. Дистильованою водою довести об'єм до 100 мл. Такий стандартний розчин смарагдово-зеленого кольору за інтенсивністю забарвлення відповідає 85 мг омиленого хлорофілу в одному літрі розчинника.

Завдання 2. Виготовити кольорову шкалу для кількісного визначення хлорофілів, користуючись таблицею розведення:

Кількість суміші Гетрі, мл	Кількість 7%-ного розчину аміаку, мл	Кількість хлорофілу, якому відповідає еталон, мг/л
5,0	5,0	42,50
2,5	7,5	21,25
2,0	8,0	17,00
1,25	8,75	10,63
1,0	9,0	8,50
0,5	9,5	4,25

Завдання 3. Виготовити спиртову витяжку з листків досліджуваних рослин і визначити концентрацію хлорофілів у листках.

Для цього зважити 0,1 г листків. Наважку помістити у фарфорову ступку, додати невелику кількість CaCO_3 , долити 10 мл етилового спирту і розтерти. Дати настоятись витяжці 15 хвилин і профільтрувати.

Порівнюючи витяжку хлорофілу із еталонною кольоровою шкалою, визначити концентрацію цього пігменту в листках досліджуваних рослин. На основі кількісного вмісту хлорофілів визначити, до якої екологічної групи світлолюбних, тіньовитривалих чи тіньових – належать досліджувані рослини.

Контрольні питання:

1. Назвіть основні етапи біосинтезу хлорофілів. За рахунок якої енергії протікають реакції відновлення цього процесу?
2. Охарактеризуйте, як впливає інтенсивність та спектральний склад світла на фотосинтетичну функцію.
3. опишіть екологічні групи рослин щодо їх вимог до світла.

Тема: Фотосенсибілізуєча дія хлорофілу на реакцію перенесення водню

Мета: Прослідкувати перенесення водню від відновника до акцептора водню під дією світла при участі хлорофілу поза хлоропластом.

Натуральні об'єкти: зелені листки рослин.

Реактиви: етиловий спирт, аскорбінова кислота (кристалічна), метиленовий червоний (насичений розчин в етанолі).

Обладнання: пробірки у штативах, ваги, фарфорові ступки і товчачки, електролампа, чохол зі світлонепроникного чорного паперу, лінійка.

Теоретичні відомості

Здатність речовин передавати поглинуту ними енергію світлових променів на хімічні перетворення оптично недіяльних сполук називається фотосенсибілізацією. До фотосенсибілізаторів відноситься хлорофіл. У процесі фотосинтезу його енергія збудження передається на фотоокислення води з наступним перенесенням водню (електрона) на кінцевий акцептор-НАДФ. У модельних дослідах можна підібрати такий акцептор водню, якій змінює своє забарвлення при відновленні, що робить реакцію перенесення водню дуже наглядною.

У даній роботі донором водню є аскорбінова кислота, а акцептором – метиленовий червоний, який при відновленні знебарвлюється. Фотосенсибілізатором у даному досліді є хлорофіл.

Хід роботи:

Завдання 1. Виготовити спиртову витяжку пігментів. Для цього подрібнити ножицями у фарфорову ступку 3 г листків, відкидаючи товсті жилки, додати трохи CaCO_3 і 2-3 мл етилового спирту, добре розтерти матеріал до гомогенного стану, потім додати 15 мл етанолу і розмішати. Через 5 хв. відфільтрувати витяжку у пробірку.

Завдання 2. Поставити дослід у 4-х варіантах. У пробірках виготовити суміші наступного складу: в першу, другу і третю налити по 5 мл витяжки

пігментів, а в четверту – 5 мл етанолу. В першу, другу і четверту пробірки додати 50 мг аскорбінової кислоти. Після цього у всі пробірки додати кілька краплин розчину метиленового червоного до появи стійкого червоного забарвлення. На другу пробірку одягнути чохол зі світлонепроникного чорного паперу.

Завдання 3. Всі пробірки одночасно виставити на світло на відстані 60см від електролампи. Спостерігати за зміною забарвлення рідин у різних пробірках. Результати досліду записати в таблицю:

Варіант досліду	Умови проведення					Колір рідини в кінці досліду
	Хлорофіл	Етанол	Аскорбінова кислота	Наявність світла	Колір рідини після додавання барвника	
1	+	-	+	+	+	
2	+	-	+	-	-	
3	+	-	-	+	+	
4	-	+	+	+	+	

За одержаними результатами зробити висновки, давши відповіді на питання:

1. Які причини неоднакового забарвлення рідин у різних варіантах у кінці досліду?
2. З якою метою ставився 4-й варіант досліду?
3. Який з варіантів слід вважати еталоном для порівняння ? Чому?

Контрольні питання:

1. Опишіть склад фотосистем I та II.
2. Охарактеризуйте первинні фотохімічні реакції фотосинтезу.
3. Де та як відбувається фотоліз води при фотосинтезі?
4. Поясніть суть реакції Р. Хіла.

Лабораторна робота № 15

Тема: Визначення інтенсивності фотосинтезу методом асиміляційної колби (за Л.О. Івановим і Н.А. Косовичем)

Мета: Визначити інтенсивність фотосинтезу за кількістю вуглекислого газу, що поглинається листками при фотосинтезі.

Натуральні об'єкти: листки дослідних рослин.

Реактиви: 0,025н розчин $\text{Ba}(\text{OH})_2$, 0,025н розчин HCl , розчин фенолфталеїну.

Обладнання: колби на 250 мл, гумові корки, мірні циліндри, ножиці, міліметровий папір, електролампа.

Теоретичні відомості

До групи основних газометричних кількісних методів визначення інтенсивності фотосинтезу належить метод асиміляційної колби. Він ґрунтується на визначенні інтенсивності фотосинтезу за кількістю поглинутого CO_2 листком або пагоном у замкненій атмосфері зі сталим об'ємом повітря. Частина CO_2 , що міститься з колби, використовується в процесі фотосинтезу. Якщо дослідна і контрольна (без рослини) колби мають однаковий об'єм і якщо в обидві колби було налито однакову кількість розчину $\text{Ba}(\text{OH})_2$, то кількість поглинутого рослиною діоксиду вуглецю буде прямо пропорційна різниці результатів титрування вмісту цих колб.

Хід роботи:

Завдання 1. Поставити дослід для визначення кількості поглинутого CO_2 рослиною при здійсненні процесу фотосинтезу.

Для цього в 2 колби налити по 20мл 0,025н $\text{Ba}(\text{OH})_2$. В дослідну колбу опустити на нитці гілочку рослини так, щоб вона не торкалась $\text{Ba}(\text{OH})_2$. Друга колба лишається без рослини. Вона служить контролем. Колби закрити корками і виставити на яскраве світло на 15-20 хвилин.

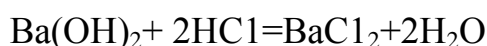
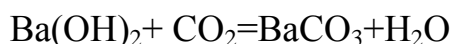
Завдання 2. Після експозиції листки із колби швидко вийняти, в обидві колби додати по 3 краплини індикатора фенолфталеїну і залишок $\text{Ba}(\text{OH})_2$ в

кожній з них відтитрувати 0,025н НСІ до зникнення рожевого забарвлення.

Завдання 3. Визначити інтенсивність фотосинтезу по кількості поглинутого діоксиду вуглецю.

Для цього виміряти площу фотосинтезуючих листків (S) за допомогою міліметрового паперу (у дм²).

Визначити кількість поглинутого CO₂ рослиною (m). Для цього треба встановити, якій кількості CO₂ відповідає 1мл використаної для титрування кислоти, що робиться по співставленню реакцій, в які вступає луг:



З наведених рівнянь видно, що 1 моль НСІ відповідає 0,5 моля CO₂, тобто 44:2=22г CO₂.

При концентрації НСІ 0,025н, в 1мл, цього розчину міститься 0,000025 моля НСІ, що еквівалентно 22 x 0,000025 = 0,00055 г або 0,55 мг CO₂. Отже, 1 мл 0,025н НСІ відповідає 0,55 мг CO₂.

Різниця кількості НСІ, що пішла на титрування лугу в дослідній і контрольній колбі, дає ту кількість кислоти, що відповідає поглинутому CO₂.

За одержаними даними визначити кількість поглинутого CO₂ в мг за год. на 1дм² площі листка, тобто інтенсивність фотосинтезу досліджуваної рослини. Для цього скористатись формулою:

$$I_{\phi} = \frac{m}{S \cdot t}$$

I_φ – інтенсивність фотосинтезу;

m – кількість поглинутого CO₂ (мг);

S – площа фотосинтезуючих листків (дм²).

t – тривалість дослідження (год.).

Контрольні питання:

1. На чому ґрунтується визначення інтенсивності фотосинтезу методом асиміляційної колби? Які позитивні та негативні риси цього методу?
2. Дати визначення інтенсивності фотосинтезу. Які фактори зовнішнього середовища впливають на його величину?

Лабораторна робота № 16-17

Тема: Визначення втрати сухої речовини під час проростання насіння. Знімання результатів дослід.

Мета: Встановити зміну сухої маси проростаючого насіння в результаті процесу дихання при відсутності автотрофного живлення проростків.

Натуральні об'єкти: насіння злакових культур (пшениці, ячменю, жита).

Обладнання: сушильна шафа, ваги, наважки, чашки Петрі, фільтрувальний папір.

Теоретичні відомості

Дихання – це біологічне окиснення органічних речовин до CO_2 і H_2O , що супроводжується вивільненням енергії.

Інтенсивність дихання визначається по кількості поглинутого молекулярного кисню, по кількості виділеного діоксиду вуглецю чи по кількості окисненої органічної речовини. Тобто у процесі здійснення дихального процесу відбувається витрата сухої речовини. Найбільш зручним об'єктом для обліку кількості витрачених на дихання органічних речовин є проростаюче насіння. Пророщування проводять в умовах, що виключають можливість як ґрунтового, так і повітряного живлення. В таких умовах органічні речовини не утворюються, а, отже, можна обчислити загальну кількість витрачених рослиною поживних речовин у процесі дихання за певний період часу.

Хід роботи:

Завдання 1. Відібрати дві порції по 50 насінин (жита, ячменю, пшениці) цілих, непошкоджених, однакової величини. Кожну порцію насіння зважити з точністю до 0,1 г, визначивши їх повітряно-суху масу. Результати зважувань записати у таблицю.

Першу порцію насіння висипати у бюкс і висушити у сушильній шафі при температурі 130°C до сталої маси, охолодити і зважити (для визначення абсолютно сухої маси). Одержані дані записати у таблицю.

Другу порцію насіння помістити у чашку Петрі, дно якої вистелене зволоженим фільтрувальним папером. Посудину з насінням помістити для проростання у темряву, щодня зволожуючи фільтрувальний папір.

Завдання 2. Через тиждень проростки вийняти із чашки Петрі, обсушити за допомогою фільтрувального паперу і зважити з точністю до 0,1 г, визначивши сиру масу рослин.

Потім проростки висушити у сушильній шафі до абсолютного сухого стану при температурі 100-105°C, зважити і визначити їх суху масу. Результати записати у таблицю.

Якщо проросло не все насіння, то облікується лише проросле, а потім проводиться перерахунок сирої та сухої маси проростків на 50 екземплярів.

Завдання 3. Провести обчислення втрати сухої речовини. Для цього:

а) визначити вологість насіння, для чого від повітряно-сухої маси першої порції насіння відняти абсолютно суху масу цього насіння ($m_1 - m_2$). Вологість, обчислену в одиницях маси, виразити у відсотках. Вважається, що така ж вологість і взятого для пророщування насіння.

б) знаючи вологість насіння, обчислити, скільки сухої речовини містилося у насінні, взятому для досліду пророщування.

в) визначити витрату сухої речовини при розвитку проростків. Це буде різниця між абсолютно сухою масою насіння та сухою масою рослин, які з нього проросли ($m_2 - m_4$). Витрату сухої речовини виразити у відсотках.

Проаналізувавши одержані результати, зробити висновки про причини

зміни сирої і сухої маси під час проростання насіння досліджуваних рослин.

На основі одержаних результатів, обчислити інтенсивність дихання за формулою:

$$I = \frac{m}{t \cdot M}$$

де I – інтенсивність дихання;

m – кількість окисленої органічної речовини, г;

t – тривалість досліду, год.;

M – сира маса проростків, г.

Назва досліджуваної рослини	Насіння			Проростки			Витрата сухої речовини	
	Повітряно-суха маса, г, m_1	Абсолютно суха маса, г, m_2	Вміст води, %	Сира маса, г, m_3	Суха маса, г, m_4	Вміст води, %	г	%

Контрольні питання:

1. Чому при проведенні роботи насіння пророщується в темряві?
2. Чи потрібно при проведенні розрахунків враховувати масу насіння, яке не проросло? Чому?
3. Яке насіння втратить більше сухої речовини під час пророщування: те, що знаходилось при кімнатній температурі (20-22°C) чи у термостаті ($t^\circ=35^\circ\text{C}$)? Чому?
4. Які органічні речовини використовують рослини як субстрати дихання? Які біохімічні перетворення відбуваються з ними у ході біологічного окислення? Які шляхи дихального обміну лежать в основі цих перетворень?

Лабораторна робота № 18

Тема: Визначення інтенсивності дихання за кількістю виділеної вуглекислоти (за методом П. Бойсен-Ієнсена)

Мета: Оволодіти методикою визначення інтенсивності дихання за кількістю CO₂, що виділяє рослина в процесі дихання.

Натуральні об'єкти: сухе, вологе і проросле насіння.

Реактиви: 0,1н. розчин Ba(OH)₂; 0,1н. розчин HCl, фенолфталеїн.

Обладнання: скляні колби, гумові корки, бюретки, ваги, наважки, марля, ножиці.

Теоретичні відомості

Інтенсивність дихання можна визначити: 1) по кількості виділеної вуглекислоти; 2) по кількості поглинутого кисню; 3) по витраті сухої речовини. Всі ці показники розраховуються на одиницю маси за одиницю часу.

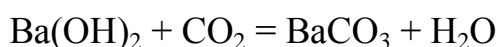
При диханні рослина поглинає O₂ та виділяє CO₂.

Метод П. Бойсен-Ієнсена для визначення інтенсивності дихання за кількістю виділеної вуглекислоти базується на властивості CO₂. зв'язуватись слабким лугом – баритом Ba(OH)₂, так як саме цей луг дуже швидко сорбує вуглекислий газ.

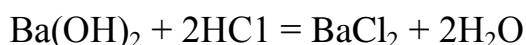
В дослідженнях необхідно встановити, яке насіння буде дихати інтенсивніше: сухе, вологе чи проросле.

В колбу для визначення інтенсивності дихання наливають певну кількість бариту і на гачок підвішують наважку дослідного об'єкту таким чином, щоб він знаходився на відстані 2-3 см від бариту.

При диханні дослідного об'єкту виділений діоксид вуглецю реагує з лугом. При цьому концентрація розчину значно зменшиться:



Через певний час луг, що залишився в колбі, титрують соляною кислотою:



Дослід ставиться у трьох варіантах:

контроль – колба без насіння,

1 варіант – сухе насіння,

2 варіант – вологе насіння (насіння замочують за 24 години),

3 варіант – проросле насіння.

За різницею титрування бариту контрольної та дослідної колб, прямо пропорційній кількості виділеного при диханні CO_2 , визначають інтенсивність дихання запропонованого об'єкту.

Для визначення інтенсивності дихання за методом П. Бойсен- Іенсена в якості об'єктів досліджень можна використовувати не лише насіння зернових культур, а й різні органи рослин – пагони, листки, квітки.

Хід роботи:

Завдання 1. Поставити дослід для визначення кількості CO_2 , поглинутого рослинним матеріалом.

а) У чотири колби однакового об'єму налити по 20 мл 0,1н $\text{Ba}(\text{OH})_2$ і закрити гумовими корками. Одна колба служить контролем для врахування CO_2 , що міститься в її об'ємі.

б) Зробити наважку рослинного матеріалу (по 5 г сухого, вологого і пророслого насіння одно- і дводольних рослин), висипати їх у марлеві мішечки і на нитці підвісити у дослідні колби (мішечок повинен легко проходити крізь горло колби і не торкатись розчину). Колби (дослідну та контрольну) поставити в однакові умови на 0,5 години.

Завдання 2. Зняти результати дослідів.

Для цього насіння з дослідних і контрольної колб вийняти, до залишку бариту додати по дві краплини фенолфталеїну і відтитрувати 0,1н розчином НС1 до зникнення рожевого забарвлення.

Результати дослідів записати у таблицю:

Об'єкт	Маса проби	Тривалість досліджу (год.)	Поправка до титру НСІ	Інтенсивність дихання в мг

Завдання 3. Обчислити інтенсивність дихання за формулою:

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

де I – інтенсивність дихання, мг/г·год;

a – кількість 0,1н НСІ, затраченої на титрування контролю, мл;

v – кількість 0,1н НСІ, витраченої на титрування досліджу, мл;

2,2 – поправка до титру (кількість CO_2 еквівалентна 1мл 0,1н НСІ);

t – час досліджу, год.;

n – наважка рослинного матеріалу, г.

Порівняти інтенсивність дихання досліджуваних об'єктів (сухого, вологого і пророслого насіння) і зробити відповідні висновки.

Контрольні питання:

1. Що таке інтенсивність дихання?
2. На чому базується метод П. Бойсен-Ієнсена?
3. Які зовнішні чинники і як впливають на інтенсивність дихальної функції?

Лабораторна робота № 19

Тема: Мікрохімічний аналіз попелу рослин

Мета: За допомогою якісних хімічних реакцій зробити аналіз попелу рослин і встановити його мікрохімічний склад.

Натуральні об'єкти: попіл з листків, деревини.

Реактиви: 1% ний розчин H_2SO_4 ; 10%-ний розчин NH_3 , 10%-ний розчин НСІ, 10%-ний розчин AgNO_3 , 1%-ний розчин Na_2HPO_4 , 1%-ний розчин $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$ в 1%-ній HNO_3 , 1%-ний розчин $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$, дистильована вода.

Обладнання: пробірки, мікроскопи, предметні скельця, лінійки, скляні палички, фільтрувальний папір.

Теоретичні відомості

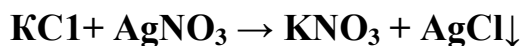
Для мікрохімічного методу потрібна невелика кількість матеріалу (попелу). Попіл, що одержують при спалюванні рослин, містить невелику кількість елементів, серед яких розрізняють макро- і мікроелементи.

Вміст зольних елементів в рослинах коливається у широких межах, в залежності від виду та органу і в середньому становить 3-15%. Склад попелу різноманітний. Майже немає елементів, які не були б виявлені у попелі тієї чи іншої рослини. В залежності від кількісного вмісту окремих елементів їх поділяють на групи: макроелементи (вміст до 0,01%), мікроелементи (вміст від 0,01 до 0,00001%) і ультрамікроелементи (менше 0,00001%).

Хід роботи:

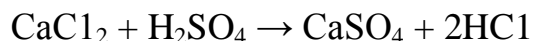
Завдання 1. Виготовити водну і кислотну витяжки попелу. Для цього у дві пробірки насипати попелу і залити в першій пробірці водою, а у другій – 10% розчином HCl (об'єм попелу повинен бути в 4 рази меншим об'єму розчинника). Добре розмішати скляною паличкою та відставити на 5-7 хвилин. Профільтрувати досліджувані розчини у чисті пробірки.

Завдання 2. Виявити у водному розчині попелу хлориди. Реактивом служить 10% розчин AgNO₃ (дослід проводять у пробірці). При наявності хлоридів утворюється білий осад AgCl.



Завдання 3. Виявити у кислотному розчині попелу такі елементи: кальцій, магній, фосфор, залізо. Провести на предметних скельцях реакції на визначення Ca, Mg, P. Для цього за допомогою скляної палички нанести на предметне скельце малу краплю витяжки і на віддалі 4-5 мм, від неї – краплю відповідного реактиву. Потім кінцем палички з'єднати краплі каналом, та підсушити. У місці з'єднання пройде реакція, причому по краях каналу буде спостерігатись швидка кристалізація продуктів реакції. Розглянути кристали, що утворюються, в мікроскоп і замалювати їх.

а) Реактивом на іон кальцію служить 1%-ний розчин H_2SO_4 .



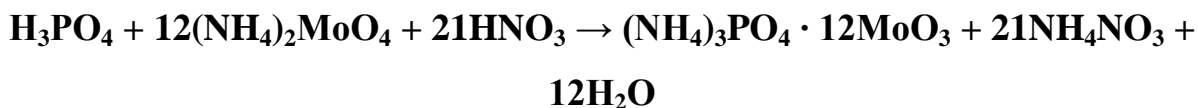
При наявності кальцію утворюються голчасті кристали гіпсу, які об'єднуються в зірочки (додаток, рис. 2).

б) Для виявлення магнію краплину кислотної витяжки попелу нейтралізувати водним розчином аміаку (NH_3) і з'єднати каналом з 1%-ним розчином (Na_2HPO_4).



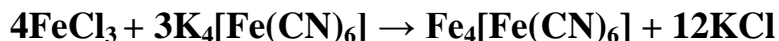
При наявності магнію утворюється фосфорноаміачномагнезіальна сіль, яка кристалізується у вигляді прямокутників, квадратів, зірочок (додаток, рис. 5).

в) Для виявлення фосфору з'єднати краплину витяжки з 1%-ним розчином $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$ в азотній кислоті.



При наявності фосфору в результаті реакції утворюється зеленувато-жовтий осад фосфорномолібденового амонію з кристалами круглої, овальної, квадратної та ромбічної форми (додаток, рис. 3,4).

г) Залізо виявляється з допомогою розчину жовтої кров'яної солі (дослід провести у пробірці).



При наявності заліза в результаті реакції утворюється берлінська лазур синього кольору.

Після проведення хімічних реакцій зробити висновки про кількісний склад попелу, який аналізується, та описати фізіологічну роль виявлення хімічних елементів.

Контрольні питання:

1. Хімічний склад рослинних організмів?
2. Які основні функції виконують елементи мінерального живлення?
Яка їх класифікація?
3. Які мінеральні елементи є незамінними?
4. Макроелементи, їх фізіологічна роль.
5. Основні мікроелементи, їх фізіологічна роль.

Лабораторна робота № 20

Тема: Кислотний гідроліз крохмалю

Мета: Прослідкувати за процесом гідролізу крохмалю та виявити проміжні продукти цього процесу.

Реактиви: крохмаль, 20%-ний розчин HCl, розчин J в KI.

Обладнання: хімічні склянки, колби, лійки, мірні циліндри, пробірки (7) у штативі, ваги технічні, різноважки, електроплитка.

Теоретичні відомості

Крохмаль – високомолекулярний полісахарид, який складається з двох полісахаридів – амілози та амілопектину, до складу яких входить велика кількість (від кількох сотень до кількох тисяч) залишків глюкози, і має емпіричну формулу $(C_6H_{10}O_5)_n$. Крохмаль не розчиняється у холодній воді, а в гарячій набухає, утворюючи клейстер.

При кип'ятінні з кислотами він розщеплюється з утворенням уламків різної величини, що мають назву декстринів. Декстрини різняться між собою за забарвленням, що виникає при додаванні розчину йоду. Негідролізований крохмаль дає синє забарвлення, перший проміжний продукт його гідролізу – амілодекстрин має фіолетове забарвлення. При подальшому гідролізі утворюється наступний проміжний продукт з меншою щільністю – еритродекстрин, який при додаванні розчину йоду забарвлюється в червоно-бурий колір. Потім утворюється ахродекстрин, який дає оранжеве забарвлення. Закінчується гідроліз крохмалю утворенням мальтодекстринів і

мальтози, які при додаванні розчину йоду не дають кольорової реакції (залишаються жовтими).

У рослинному організмі крохмаль гідролізується під дією ферменту амілази.

Хід роботи:

Завдання 1. Приготувати 0,1%-ний крохмальний клейстер. Для цього зважити 0,1г крохмалю, висипати його у хімічну склянку, додати 20 мл холодної води і перемішати. Налити в колбу 80 мл води, нагріти до кипіння, вилити в неї вміст склянки, змішати, дати розчину ще раз закипіти і зняти з вогню.

Завдання 2. Поставити в штатив 7 пробірок. В першу з них відлити з колби 4-5 мл крохмального клейстеру. Після цього в колбу додати 3,0 мл 20%-ної HCl і нагріти на електроплитці до появи перших пухирців (початок кипіння). Відлити з колби 4-5 мл розчину в другу пробірку. Продовжувати кип'ятити вміст колби, відливаючи з неї через кожні 5 хв. по 4-5 мл в наступні пробірки.

Завдання 3. Після охолодження всіх проб у 7 пробірках долити до кожної з них по 5 мл води і додати в кожен по 2 краплі розчину J в KJ. При відсутності кольорової реакції з йодом гідроліз можна вважати завершеним. Результати записати в таблицю:

Тривалість гідролізу, хв.	0	0 кис- лота	5	10	15	20	25
Забарвлення розчину							
Проміжні продукти гідролізу							

Зробити висновок про причини зміни забарвлення розчинів і вказати час, протягом якого пройшов повний гідроліз крохмалю.

Контрольні питання:

1. Яка хімічна природа крохмалю?
2. Який фермент каталізує гідроліз крохмалю у рослин? Яка його хімічна природа?
3. Як називаються проміжні продукти гідролізу крохмалю, як їх можна одержати і виявити?

Лабораторна робота № 21

Тема: Вивчення активності каталази у рослинах

Мета: Ознайомитись із діяльністю каталази у рослинному матеріалі візуальним методом та методом кількісного аналізу.

Натуральні об'єкти: насіння злакових (сухе і проросле), бульба картоплі.

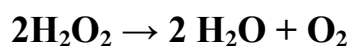
Реактиви: 1%-ний і 3%-ний розчини H_2O_2 , 10%-ний розчин H_2SO_4 , 0,1н розчин KMnO_4 .

Обладнання: пробірки в штативах, скляні палички, фарфорові ступки з товчачиками, хімічні склянки (50л), колби (250л), лінійки, фільтрувальний папір, ваги, різноважки, електроплитка.

Теоретичні відомості:

Каталаза належить до класу оксидоредуктаз. Вона виявлена майже у всіх аеробно дихаючих клітинах і у деяких факультативних анаеробів. Каталаза є двокомпонентним ферментом, який складається з білка і з'єднаної з ним активної групи, яка включає гематин, що являє собою окиснену простетичну групу гемоглобіну.

Суть каталітичної дії каталази полягає у розкладі пероксиду водню. Реакція за участю каталази потребує двох молекул пероксиду, із яких одна виступає у ролі донора, а інша – акцептора електронів:



Крім пероксиду водню каталаза розкладає також деякі похідні цієї сполуки.

Завдяки цьому ферменту з рослинного організму виводиться отруйна сполука – пероксид водню. Досить вагомую є роль каталази в постачанні молекулярним киснем тих рослинних тканин, куди його доступ є утрудненим.

Хід роботи:

Завдання 1. Визначити активність каталази у сухому і проростаючому насінні злакових культур.

Для цього у дві пробірки налити 3%-ний розчин H_2O_2 . В одну з них помістити 5-10 сухих насінин пшениці, в другу – 5-10 пророслих насінин. За інтенсивністю виділення пухирців O_2 встановити інтенсивність каталази досліджуваних об'єктів.

Завдання 2. Провести кількісне визначення каталази у рослинному матеріалі. Для цього:

а) 2-3 г свіжого рослинного матеріалу розтерти у фарфоровій ступці із 0,3 г $CaCO_3$. Долити 10 мл води і ретельно розтерти до однорідної маси. Розтерту масу перенести у хімічну склянку місткістю 50 мл і довести до заданого об'єму водою:

б) витяжку настояти 30-40 хв., після чого профільтрувати;

в) у дві склянки налити по 10 мл фільтрату. Вміст однієї склянки прокип'ятити 2-3 хвилини для інактивації ферменту (контроль). Після охолодження в обидві склянки долити по 10 мл води і по 15 мл 1%-ного розчину H_2O_2 . Суміш перемішати і інкубувати 20-30 хв.;

г) після інкубації в обидві склянки додати по 2-3 мл 10%-го розчину H_2SO_4 і титрувати 0,1 н. розчином $KMnO_4$ до слабо-рожевого забарвлення, яке не зникає протягом 1 хвилини. За різницею між титруванням контролю і досліду визначити кількість пероксиду водню, який розклався під час інкубації в перерахунку на 1 г наважки за формулою:

$$X = \frac{(a - b) \times T}{H},$$

де X – активність каталази;

a – кількість 0,1 н. розчину KMnO_4 , яку витрачено на титрування контрольної колби, мл;

b – кількість 0,1 н. розчину KMnO_4 , яку витрачено на титрування дослідної колби, мл;

T – поправка до титру, яка дорівнює 1,7 (кількість мг H_2O_2 , яка відповідає 1 мл 0,1 н. розчину KMnO_4 ;

H – наважка рослинного матеріалу, г.

На основі одержаних результатів зробити висновки про активність каталази у рослинному матеріалі, встановлену візуальним та кількісним методом.

Контрольні питання:

1. До якого класу належить фермент каталаза? Яка її хімічна природа?
2. Яка фізіологічна роль каталази в рослинах?
3. На чому ґрунтується метод кількісного визначення активності каталази в рослинах?

Лабораторна робота № 22

Тема: Виявлення дегідрогеназ у рослинних об'єктах

Мета: Експериментальним шляхом встановити функціональну активність дегідрогеназ у рослинних об'єктах.

Натуральні об'єкти: набубнявіле насіння гороху, бульби картоплі.

Реактиви: 0,5%-ний розчин метиленового синього, 0,87%-ний розчин K_2HPO_4 .

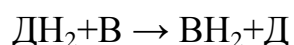
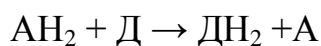
Обладнання: скальпелі, пробірки, електроплитка, термометр, фарфорові ступки з товчачиками, ваги, різноважки.

Теоретичні відомості

Дегідрогенази – ферменти, які належать до класу оксидоредуктаз. Вони каталізують реакцію відщеплення водню і приєднання його до іншої сполуки. При цьому речовина, яка втрачає водень, окислюється, а та, яка його

приєднує, відновлюється.

Дію дегідрогеназ можна проілюструвати схемою:

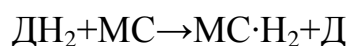


де D – дегідрогеназа,

AH₂ – окислюваний субстрат.

За характером дії дегідрогенази поділяються на аеробні та анаеробні. Аеробні переносять водень на молекулярний кисень, анаеробні – на убіхінон, чи інші переносники електронів. За своєю хімічною природою дегідрогенази бувають піридиновими і флавіновими. У складі їх молекул наявна білкова частина – апофермент і кофермент. Коферментами піридинових дегідрогеназ може бути НАД або НАДФ. Флавінові дегідрогенази у складі кофермента містять похідні рибофлавіну(вітаміну B₂) – ФАД або ФМН.

При окисненні коферментів два атоми водню переносяться на молекули акцептора. В анаеробних умовах акцептором водню може служити молекула метиленової синьки (МС), яка приєднуючи водень відновлюється і втрачає синє забарвлення, переходячи у лейкоформу (МС·H₂):



Хід роботи:

Завдання 1. Виявити дегідрогеназну активність у насінні гороху.

Для проби взяти 10 набубнявілих насінин гороху, зняти з них шкірку і помістити по 5 у 2 пробірки. Одну порцію насіння залити водою і кип'ятити 10 хвилин. Після кип'ятіння воду злити і обидві проби залити розчином метиленової синьки на 5-10 хвилин.

Після цього насіння в обох пробірках добре промити водою, помістити у дві пробірки і доверху залити водою для створення анаеробних умов. Пробірки закрити корками і помістити на водяну баню чи термостат при температурі 25-30°C на одну годину. Через годину подивитись за змінами у забарвленні насіння у двох пробірках. Пояснити.

Насіння з обох пробірок викласти у фарфорові чашки (окремо) і

залишити на повітрі (аеробні умови). Спостерігати за змінами, які відбуваються із забарвленням насіння. Зробити висновки про механізм роботи фермента.

Завдання 2. Встановити наявність дегідрогеназ у бульбах картоплі.

Взяти 2 г рослинного матеріалу (бульби картоплі), розтерти його в ступці з 10 мл розчину K_2HPO_4 і залишити при кімнатній температурі для екстрагування на 30 хвилин. Суміш постійно перемішувати. Після настоювання суміш профільтрувати і по 2 мл фільтрату перенести у 2 пробірки. Вміст однієї з пробірок прокип'ятити протягом 5-10 хвилин.

Після охолодження прокип'яченої суміші у дві пробірки долити кілька краплин розчину метиленової синьки і залити шаром олії(товщиною 1-2 мм) для створення анаеробних умов. Обидві пробірки поставити на водяну баню чи у термостат при температурі $35^{\circ}C$. Зафіксувати час, протягом якого в дослідній некип'яченій пробірці пройде обезбарвлення метиленової синьки. Пояснити причину обезбарвлення.

На основі аналізу результатів проведених досліджень зробити висновки про активність та механізм роботи дегідрогеназ у дослідженому рослинному матеріалі.

Контрольні питання:

1. Які реакції каталізують дегідрогенази?
2. На які групи поділяють дегідрогенази:
 - а) за характером дії;
 - б) за хімічно природою?
3. На яких властивостях метиленового синього ґрунтується його використання при вивченні активності дегідрогеназ?

Лабораторна робота № 23

Тема: Визначення кількісного вмісту нітратів у різних рослинних об'єктах

Мета: Визначити кількісний вміст нітратів у різних рослинних об'єктах.

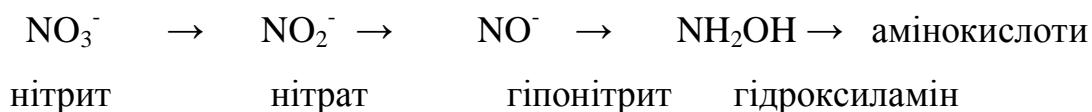
Натуральні об'єкти: коренеплоди моркви, буряка, бульби картоплі, помідора, огірка та ін.

Реактиви: 0,5%-ний розчин дифенілаламіну в концентрованій сірчаній кислоті.

Обладнання: прес для видушування соку, фарфорові ступки з товчачиками, скальпелі, марля, піпетки, фарфорові пластинки з заглибленнями для соку.

Теоретичні відомості

Азот рослини засвоюють у різній формі. Нітратна форма є найоптимальнішою. Нітрати, що поглинаються із ґрунту, відновлюються в рослині до аміаку через низку етапів, кожен з яких каталізується специфічним ферментом. Аміак зв'язується кетокислотами утворюючи у процесі відновного амінування первинні амінокислоти.



При достатньому вмісті розчинних вуглеводів і високій активності відповідних ферментів ці біохімічні процеси відбуваються в коренях. Однак частина нітратів (часто досить значна) може пройти через паренхіму кореня у незмінному вигляді. У цьому випадку вони попадають у судини ксилеми і підіймаються з висхідним потоком до листка, де і відбувається їх відновлення. Для відновлення нітратів необхідна АТФ.

При передозуванні азотних добрив, недостатньому освітленні, вони накопичуються у різних частинах рослин. Допустимий вміст нітратів становить 30-150 мг на 1 кг сирової маси залежно від культури.

Хід роботи:

Завдання 1. З контрольного розчину шляхом розведення дистильованою водою контрольного розчину KNO_3 приготувати стандартні розчини з концентрацією NO_3^- на 1 л дистилату: 1000 мг – без розведення, 500 мг (1:1), 250 мг (1:4), 125 (1:8), 10 (1:100). Стандартні розчини KNO_3 помістити на пластинку у комірочки від нижчої до вищої концентрації. У інші комірочки помістити по 2 краплини соку (або гомогенної маси) досліджуваних рослинних об'єктів.

Завдання 2. До стандартних розчинів і соку досліджуваних рослин додати по 1 краплині реактиву дифеніламіну. Реактив взаємодіє з азотом і синіє через 1-2 хвилини (провести порівняння зі стандартними розчинами різних концентрацій потрібно швидко, по скільки надалі воно буде змінюватись).

Результати записати у таблицю:

№	Об'єкт	Концентрація стандартного розчину (мг NO_3^- /л, якому відповідає інтенсивність забарвлення соку рослин)				
		10	125	250	500	1000

На основі одержаних результатів зробити висновки про кількісний вміст нітратів у досліджуваних рослинних об'єктах та про безпечність їх вживання.

Контрольні питання:

1. Яке фізіологічне значення нітрогену в житті та функціонуванні рослин і які симптоми його нестачі?
2. Назвіть основні джерела азотного живлення вищих рослин.
3. Які організми здатні засвоювати азот із повітря?
4. У чому суть біологічної азотфіксації? Які ферменти задіяні у цьому процесі?
5. Що таке редукція нітратів? Які ферменти каталізують окремі етапи цього процесу та в яких органах вони локалізовані?

6. Назвіть основні етапи кругообігу азоту в природі. Чому аміак називають альфою та омегою азотного обміну в рослинах?

7. Перелічіть шляхи асиміляції азоту в рослинах.

Лабораторна робота № 24

Тема: Вплив концентрації розчину солей на проростання насіння

Мета: Встановити залежність проростання насіння різних рослин від ступеня засолення середовища та його водного потенціалу.

Натуральні об'єкти: насіння соняшника, вівса, жита, плоди огірків, помідорів, коренеплід цукрового буряка.

Реактиви: 1М розчин NaCl.

Обладнання: чашки Петрі, фільтрувальний папір, лінійки.

Теоретичні відомості

Засолення ґрунтів зумовлює виникнення низького водного потенціалу, а тому вбирання води рослиною сильно утруднюється. Крім цього, шкідливий вплив солей спричинює глибокі порушення процесу обміну речовин – змінюються азотний і нуклеїновий обміни, нагромаджується аміак та інші токсичні для рослин проміжні продукти.

Дикорослі і культурні рослини на вплив різних концентрацій солей реагують по різному. Деякі з них розвиваються навіть тоді, коли концентрація розчинних солей становить 1% та більше. Рослини, які зростають на засолених ґрунтах, називаються *галофітами*. Друга група рослин, які характеризуються дуже помітною чутливістю до впливу солей і не розвиваються на засолених ґрунтах, дістали назву *глікофітів*.

Хід роботи:

Завдання 1. Поставити дослід на вивчення впливу концентрації розчину солей на проростання насіння. Для цього з 1М розчину NaCl виготовити 0,1М та 0,01М розчини NaCl. Дно чашок Петрі вистелити фільтрувальним папером.

Відібрати 4 порції насіння по 50 штук (непошкодженого і однакового за розмірами), рівномірно розкласти його в чашках Петрі.

У першій чашці фільтрувальний папір і насіння змочити 10 мл 1М розчину NaCl, у другій – 10 мл 0,01М розчином NaCl, у третій – 10 мл 0,01М розчином NaCl, у четвертій – 10 мл води. Чашки Петрі накрити кришками і поставити для проростання.

Завдання 2. Через тиждень підрахувати кількість пророслих насінин у кожному варіанті, довжину надземної частини і кореневої системи, їх сиру масу. За формулою $\pi^* = RTCi$ обчислити величину осмотичного тиску розчинів. Одержані результати записати у таблицю:

Об'єкт	Конц. розчину NaCl, М	К-сть пророслих насінин, %	Осм. тиск розчинів, атм.	Довжина, мм		Сира маса, мг	
				Кореневої системи (середнє)	Надземної частини (середнє)	Кореневої системи (середнє)	Надземної частини (середнє)
	1,0						
	0,1						
	0,01						
	вода						

На підставі результатів досліджень зробити висновок про вплив різних концентрацій NaCl на проростання насіння та солестійкість дослідних рослин.

Контрольні питання:

1. Як класифікуються ґрунти за ступенем та типом засолення?
2. Які причини шкідливої дії солей на рослини?
3. На які групи поділяються галофіти та які механізми захисту від підвищеної концентрації солей у ґрунті в них наявні?
4. Які особливості реакції рослин різних екологічних груп на засолення?
5. Чому культурні рослини не можуть розвиватись на засолених ґрунтах?

Лабораторна робота № 25

Тема: Виявлення захисної дії цукрів на цитоплазму клітин при низьких температурах

Мета: Вивчити вплив розчинів сахарози різної концентрації на підвищення стійкості рослин до від'ємних температур.

Натуральні об'єкти: коренеплід буряка столового.

Реактиви: 1,0 і 0,5М розчини сахарози, 8%-ний розчин NaCl, охолоджуюча суміш (сніг і NaCl).

Обладнання: термометр, скальпелі, леза бритви, скляні пробірки (3) у штативах, хімічні склянки, мікроскопи, предметні і покривні скельця.

Теоретичні відомості

Пошкоджуюча дія низьких температур на рослинний організм пов'язана з утворенням льоду. Кристали льоду утворюються як всередині клітини, так і в міжклітинниках. У цьому випадку руйнується структура цитоплазми і клітина гине. Про ступінь пошкодження цитоплазми можна судити за її здатністю утримувати клітинний сік.

Особливе значення в розвитку стійкості рослин до морозу має накопичення сахарози та інших олігоцукрів. Як наслідок підвищується осмотичний тиск, знижується точка замерзання розчинів, значна частина води переводиться в осмотично зв'язаний стан і цим самим зменшується кількість утворення кристаликів льоду. Отже, стійкість колоїдів цитоплазми може бути підвищена захисними речовинами, серед яких важлива роль належить розчинним цукрам.

Хід роботи:

Завдання 1. З очищеного коренеплоду столового буряка зробити 12-15 однакових за розмірами зрізів (товщина приблизно 1мм). Помістити їх у посудину і промити для видалення соку, що витікає з пошкоджених клітин. Перенести по 4-5 зрізів у 3 пробірки. У першу пробірку на 25% налити води, у другу – стільки ж 0,5М розчину сахарози, в третю – 1,0М розчин сахарози.

Завдання 2. Приготувати охолоджуючу суміш: до 3 частин битого льоду додати 1 частину кухонної солі і перемішати ($t^{\circ} = -20^{\circ} \text{C}$). Занурити всі пробірки в охолоджуючу суміш на 15-20 хв, після чого їх перенести у склянку з водою кімнатної температури. Після розморожування відмітити забарвлення рідини в пробірках і забарвлення зрізів. Результати записати в таблицю.

Завдання 3. Визначати життєздатність клітин, піддавши їх дії гіпертонічного 8 %-ного розчину NaCl. Визначити частку плазмолізованих клітин. Дані записати у таблицю:

Вода			
Сахароза 0,5 М			
Сахароза 1,0 М			

На основі спостережень та одержаних даних зробити висновки про вплив осмотично активних речовин (сахарози) на стійкість рослин до низьких температур. Розкрити можливі механізми цього впливу.

Контрольні питання:

1. Що таке морозостійкість? Яка різниця між морозо-, холодо-, і зимостійкістю рослин?
2. У чому проявляється захисна дія сахарози? У якій фазі загартовування і завдяки здійсненню якої функції ця речовина накопичується у рослинах?
3. Які речовини крім сахарози, підвищують морозостійкість рослинних клітин?
4. У чому проявляється пошкоджуюча дія від'ємних температур на рослинний організм?

Рекомендована література

Основна:

1. Викторов Д. П. практикум по физиологии растений. – Воронеж : Изд-во университета, 1991. – 157 с.
2. Кретович В. Л. Биохимия растений : – 2-е изд. – М. : наука, 1986. – 504 с.
3. Мусієнко М. М. Екологія рослин : – К. : Либідь, 2006. – 432 с.
4. Мусієнко М. М. Фізіологія рослин : – К. : Либідь, 2005. – 808 с.
5. Негода О. В. Лабораторний практикум з фізіології рослин. – К. : Фітосоціоцент, 2003. – 109 с.
6. Хлястіков Г. П., Мойсеєнко Б. М. Практикум з фізіології і біохімії рослин : Практикум : – К. : Урожай, 2001. – 120 с.
7. Якушкіна Н. И. Физиология растений. Учеб. пособ. : – М. : Просвещение , 1993. – 351 с.

Додаткова:

1. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта. – М. : Агропромиздат, 1985. – 351 с.
2. Казаков Є. О. Методологічні основи постановки експерименту з фізіології рослин. – К. : Фітосоціоцент, 2000. – 272 с.

ДОДАТОК

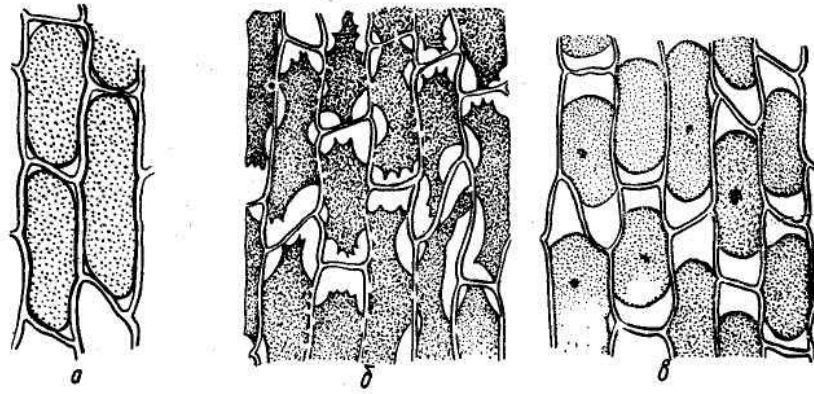


Рис. 1. Різні форми плазмолізу в клітинах шкірочки цибулі:
 а – початкова форма плазмолізу (відставання цитоплазми в куточках клітин);
 б – угнута форма плазмолізу; в – опукла форма плазмолізу.

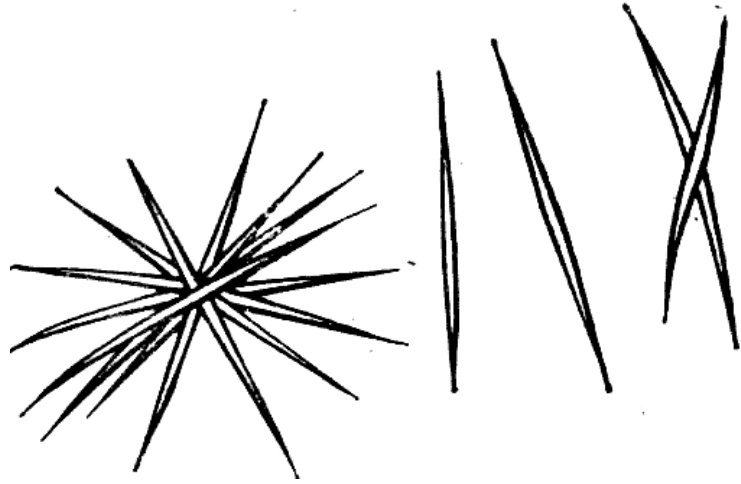


Рис. 2. Кристали сульфату кальцію (гіпсу) під мікроскопом.

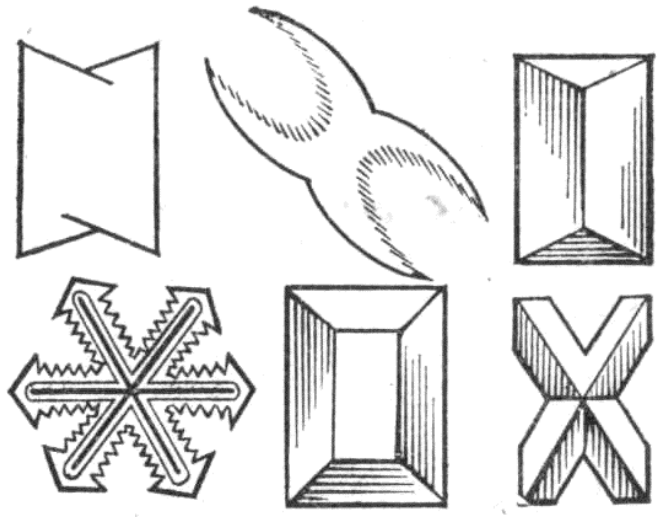


Рис. 3. Кристали фосфорноаміачномагnezіальної солі

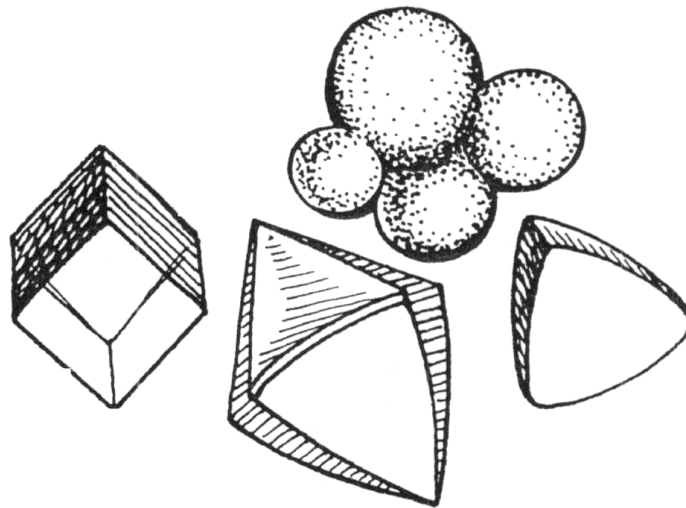


Рис. 4. Кристали фосфорномолібдату амонію.

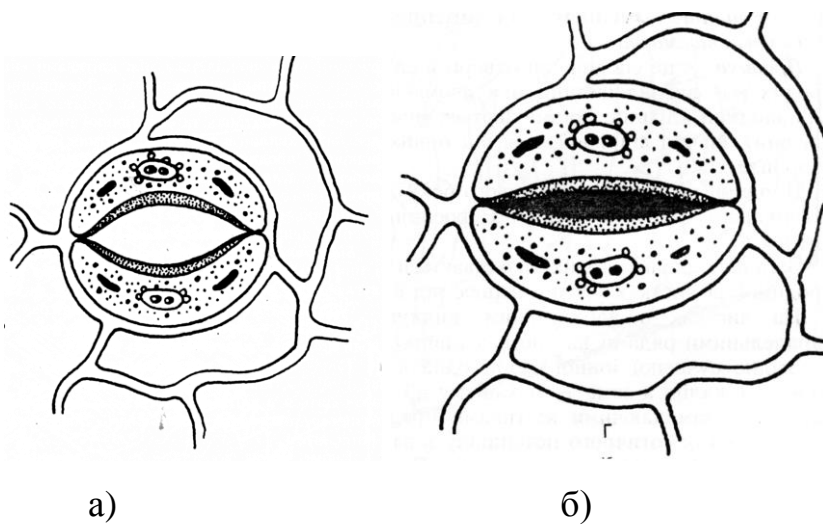


Рис. 5. Будова продохів: а – продох відкритий; б – продох закритий

Для нотаток

Для нотаток

Навчально-методичне видання

Машевська Алла Степанівна
Єрмейчук Тамара Музаффарівна
Голуб Валентина Олександрівна

Фізіологія та біохімія рослин

Методичні вказівки до виконання лабораторних робіт для студентів
денної та заочної форми
спеціальності «Біологія» біологічного факультету

Друкується в авторській редакції

Формат 60x84 ¹/₁₆. Обсяг 3,72 ум. друк. арк., 3,66 обл.-вид. арк.
Наклад 300 пр. Зам. 162. Видавець і виготовлювач – Вежа-Друк
(м. Луцьк, вул. Бойка, 1, тел. (0332) 29-90-65).
Свідоцтво Держ. комітету телебачення та радіомовлення України
ДК № 4607 від 30.08.2013 р.