

СХІДНОЄВРОПЕЙСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ІМЕНІ ЛЕСІ УКРАЇНКИ  
МЕДИКО-БІОЛОГІЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ  
КАФЕДРА БОТАНІКИ І МЕТОДИКИ ВИКЛАДАННЯ ПРИРОДНИЧИХ НАУК

# **РОБОЧИЙ ЗОШИТ З ФІЗІОЛОГІЇ ТА БІОХІМІЇ РОСЛИН**

Студента(ки) \_\_\_\_\_ групи

---

---

Луцьк - 2020

УДК 581.192(076)  
М 38

*Рекомендовано до друку методичною радою  
Східноєвропейського національного університету імені Лесі Українки  
(протокол № \_\_\_\_\_ від \_\_\_\_\_ - \_\_\_\_\_ 2020 року)*

**Рецензент:**

**Марушко Л. П.** – кандидат хімічних наук, доцент кафедри органічної хімії та фармації СНУ імені Лесі Українки;

**Піскач Л. В.** – кандидат біологічних наук, доцент кафедри неорганічної та фізичної хімії СНУ імені Лесі Українки.

**Машевська А. С.**

АБ28

Фізіологія та біохімія рослин: Робочий зошит для виконання лабораторних робіт з фізіології та біохімії рослин для студентів II курсу денної форми навчання спеціальності «Лабораторна діагностика» медико-біологічного факультету / А. С. Машевська, Т. М. Єрмейчук, В. О. Голуб–Луцьк: ФОП Байбула К.В., 2020. – 65 с.

В робочому зошиті представлено лабораторні роботи, що висвітлюють основні розділи програми курсу «Фізіологія та біохімія рослин». Робочий зошит призначений для допомоги студентам II курсу медико-біологічного факультету денної форми навчання у підготовці та виконанні лабораторних робіт з курсу «Фізіологія та біохімія рослин».

**УДК 581.192(076)**  
**М 38**

© Машевська А. С., Єрмейчук Т. М., Голуб  
В.О., 2020

## ЗМІСТ

Тема: ЯКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ЦУКРІВ, ЖИРІВ ТА БІЛКІВ У РОСЛИННОМУ МАТЕРІАЛІ...	4
Тема: РОСЛИННА КЛІТИНА ЯК ОСМОТИЧНА СИСТЕМА. ЯВИЩЕ ПЛАЗМОЛІЗУ І ДЕПЛАЗМОЛІЗУ.....	9
Тема: ВИЗНАЧЕННЯ ВСИСНОЇ СИЛИ КЛІТИН СПРОЩЕНИМ МЕТОДОМ (ЗА УРШПРУНГОМ).....	14
Тема: БУДОВА ТА РУХИ ПРОДИХІВ .....	18
Тема: ВИЗНАЧЕННЯ ПОКАЗНИКІВ ТРАНСПІРАЦІЙНОГО ПРОЦЕСУ – ІНТЕНСИВНОСТІ ТА ВІДНОСНОЇ ТРАНСПІРАЦІЇ .....	23
Тема: ЯВИЩЕ ГУТАЦІЇ. ВПЛИВ УМОВ НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА НА ГУТАЦІЮ РОСЛИН. ....	28
Тема: ФІЗИЧНІ ТА ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ХЛОРОФІЛУ .....	33
Тема: РОЗДІЛЕННЯ ПІГМЕНТІВ ЗЕЛЕНОГО ЛИСТКА МЕТОДОМ ПАПЕРОВОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ.....	38
Тема: ВИЗНАЧЕННЯ КІЛЬКІСНОГО ВМІСТУ ХЛОРОФІЛІВ У ВИТЯЖЦІ.....	42
Тема: ВИЗНАЧЕННЯ ІНТЕНСИВНОСТІ ДИХАННЯ ЗА КІЛЬКІСТЮ ВИДІЛЕНОЇ ВУГЛЕКИСЛОТИ (ЗА МЕТОДОМ П. БОЙСЕН-ІЄНСЕНА) .....	45
Тема: ВИВЧЕННЯ АКТИВНОСТІ КАТАЛАЗИ У РОСЛИН .....	50
Тема: МІКРОХІМІЧНИЙ АНАЛІЗ ПОПЕЛУ РОСЛИН .....	53
ТЕМА: КИСЛОТНИЙ ГІДРОЛІЗ КРОХМАЛЮ .....	59

## 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.

**Обладнання та матеріали:** пробірки в штативах, хімічні склянки, колби, фарфорові ступки, скальпелі, предметні та покривні скельця, мікроскопи, лійки, колби, фільтрувальний папір, електроплитка, бульба картоплі, насіння злакових, бобових та олійних культур, плоди винограду, горохове і пшеничне борошно, 20%-ний розчин HCl, розчин судану III, 10%-ний розчин  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 10%-ний розчин NaOH, 1%-ний розчин  $\text{CuSO}_4$ , розчин Фелінга.

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.

Яке забарвлення спостерігаємо? По інтенсивності 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	Редууючі цукри	
		до гідролізу	після гідролізу

**Завдання 2.** Провести якісне виявлення жирів у рослинному матеріалі.

Для цього зробити зрізи пророслої насінини пшениці або 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.

Яке забарвлення рослинного матеріалу спостерігаємо? Зробити висновок, в якій частині насінини (зародку, ендоспермі) наявні жири. Чому? Позначити на рисунку.

---



---



---



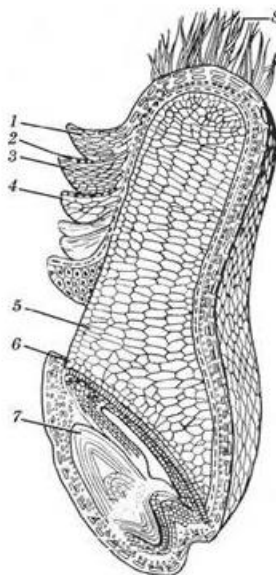
---



---



---



Поздовжній розріз зерна пшениці:

**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%-ого розчину  $\text{CuSO}_4$ .

Які зміни відбуваються в результаті хімічної реакції у даному розчині? Чому?

---



---



---



---

**Висновки :**

---



---



---

---

---

**Дати відповіді на 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 у рослинній клітині.

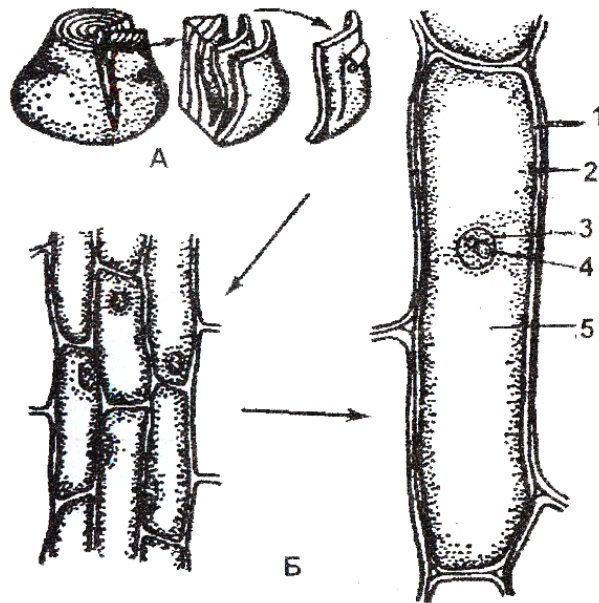
**Обладнання та матеріали:** цибулина синьої цибулі, 8%-ний розчин NaCl , препарувальна голка, мікроскоп, скальпелі, предметні і покривні скельця, скляні палички, хімічні склянки, фільтрувальний папір, електроплитка.

Пограничні мембрани цитоплазми (плазмалема і тонопласт) мають обмежену і вибірккову проникність. Зокрема, через них легко проходять молекули води. Ця властивість називається напівпроникністю, а рух води через напівпроникні мембрани, викликаний градієнтом концентрацій – 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 повертатися у тургорний стан.

#### Хід роботи:

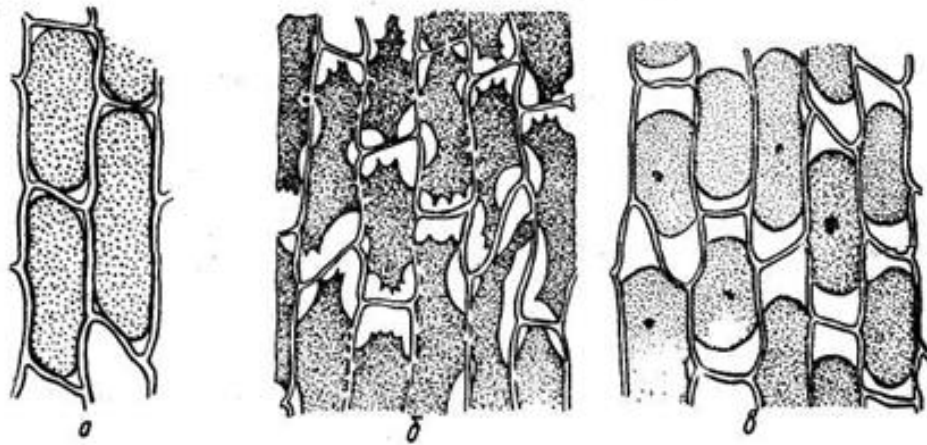
**Завдання 1.** Спостереження за неплазмолізованими клітинами епідермісу. Зробити зріз епідермісу луски цибулі, клітини якого містять антоціан. Помістити зріз в краплю води на предметне скло, накрити покривним і розглянути в

мікроскоп. На рисунку зазначити та відмітити кольором: 1 – оболонку; 2 – цитоплазму; 3 – ядро; 4 – ядерце; 5 – вакуолі.



**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 у яких спостерігаються різні форми плазмолізу. Позначити на малюнку ступінь і форму плазмолізу, основні структури клітини та напрям осмотичного току води.



---

---

---

---

**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. Зробити відповідний малюнок.

**Завдання 4.** Вплив термічної обробки на хід плазмолізу.

Епідерміс луски цибулини прокип'ятити у воді 2-3 хвилини. На предметне скло нанести краплю 8%-ного розчину NaCl і помістити в неї шкірку. Накрити покривним скельцем. Розглянути в мікроскоп і встановити, чи проходить плазмоліз.

Записати результати спостереження.

---

---

---

---

Зробити схематичні малюнки клітин у воді і після перебування у гіпертонічному розчині. Позначити основні складові частини клітин, показавши стрілками напрям руху води при деплазмолізі.

**Висновки:**

---

---

---

---

---

**Дати відповіді на питання:**

1. Чим заповнений простір між клітинною оболонкою і протопластом у плазмолізованих клітинах? Чому?

---

---

---

---

---

2. В чому полягає різниця між проникністю клітинної оболонки і мембран цитоплазми?

---

---

---

---

---

3. В чому подібність і відмінність між явищами вільної дифузії води та осмосом?

---

---

---

---

---

### Лабораторна робота №3

#### Тема: ВИЗНАЧЕННЯ ВСИСНОЇ СИЛИ КЛІТИН СПРОЩЕНИМ МЕТОДОМ (ЗА УРШПРУНГОМ)

**Мета:** Визначити величину всисної сили клітин рослинного об'єкту. Встановити величину тургорного тиску клітин в залежності від ступеня їх оводненості.

**Обладнання та матеріали:** 1М розчин NaCl, дистильована вода, бульби картоплі, мірні пробірки (циліндри), лінійки, скальпелі, пінцети, пробірки в штативах, олівець по склу.

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

Визначення всисної сили клітин даним методом здійснюється шляхом підбору ізотонічного розчину, в якому не відбувається ні втрати, ні поглинання води клітинами. При зануренні шматка тканини у розчин різної концентрації змінюються їх розміри: в гіпертонічному розчині розміри зменшуються, в гіпотонічному – 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 1,0 М

розчин NaCl, а у цьому – воду. Вирізати з бульби картоплі пластинку і товщиною 3-4мм, а з неї прямокутник завширшки 20-30мм і завдовжки 30-70мм. Розрізати його вздовж на сім однакових смужок шириною 2-3мм, виміряти їх довжину з точністю до 0,5мм 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 20-30хв. 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
Висна сила розчину, МРа	Вихідна							
	Після перебування в розчині							
Довжина смужки, мм								
Різниця, мм								
Тургор								

У другій графі таблиці записати величину всисної сили розчинів, яка чисельно рівна їх осмотичному тиску, обчисленого за формулою Вант-Гоффа :

$$S = \pi^* = RTCi,$$

де  $\pi^*$  – осмотичний тиск, T – абсолютна температура ( $273^\circ + tC^\circ$ ), C – Ізотонічна концентрація в молях, i – ізотонічний коефіцієнт, R – постійна газова стала, яка дорівнює – 0,0821 л. атм./град. моль.

Дані для 5-ї графі знайти як різницю більшої і меншої величини, 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. Пояснити причини зміни розмірів смужок у розчинах різної концентрації і встановити, який із розчинів є ізотонічним.

---



---



---



---



---

**Висновки:**

---



---



---



---

**Дати відповіді на питання:**

1. В яку сторону зміниться довжина кусочка рослинної тканини при зануренні її в розчин з осмотичним тиском 1МПа, якщо відомо, що кусочок тієї ж тканини в розчині з осмотичним тиском 0,7МПа не змінив своїх розмірів?

---



---



---



---

2. Кусочки однієї і тієї ж рослинної тканини занурені в ряд розчинів з осмотичним тиском 0,3; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 МПа. Клітини цієї тканини перед



зануренням в розчини мали тургорний тиск 0,5 МПа, а осмотичний тиск клітинного соку 1,5 МПа. В яких розчинах:

а) клітини будуть всмоктувати воду

---

б) клітини будуть віддавати воду

---

в) буде спостерігатись плазмоліз

---

3. В 6 пробірок налиті розчини NaCl з концентраціями: 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 1,0 М. В ці розчини помістили смужки вирізані з бульби картоплі, довжина яких до занурення становила 40 мм. Через 30 хв. довжина смужок виявилась рівною 42, 40, 38, 35, 35, 35 мм. Як пояснити одержані результати?

---

---

---

---

---

---

---

4. Чому довжина смужок виявилась однаковою в трьох останніх розчинах?

---

---

---

---

---

---

---

## Лабораторна робота № 4

### Тема: БУДОВА ТА РУХИ ПРОДИХІВ

**Мета:** Вивчити будову та гідроактивну реакцію продихів. Засвоїти один із простих методів визначення величин інтенсивності транспірації.

**Обладнання та матеріали:** листки традесканції, 5%-ний розчин гліцерину, пінцети, препарувальні голки, мікроскопи, предметні і покривні скельця, чашки Петрі, торсійні та технічні ваги, міліметровий папір, лінійки.

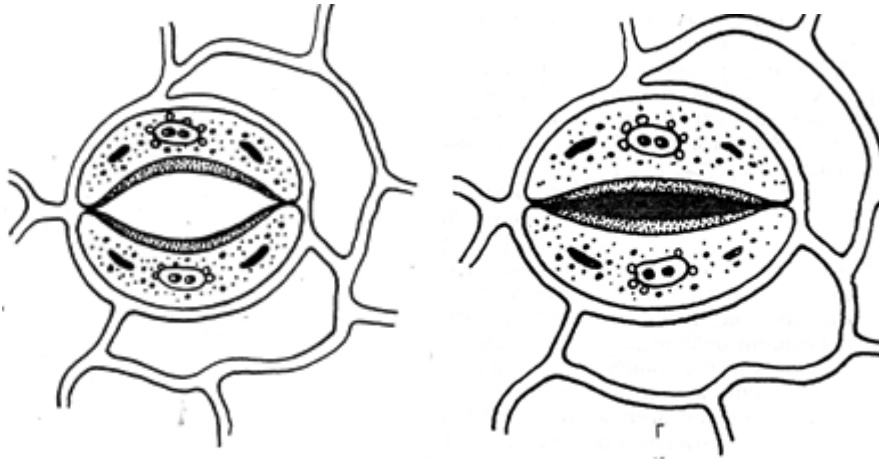
Транспірація – фізіологічний процес випаровування води рослиною, яка здійснюється через продихи, які складаються із двох замикаючих клітин та продихової щілини. Гідроактивна реакція полягає у залежності ступеня відкритості продихів від вмісту води у замикаючих клітинах: чим більше води, тим ширша продихова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

Інтенсивність транспірації – це кількість води, що випаровується за одиницю часу одиницею листової поверхні. Найбільш простий і досить точний метод обліку транспірації – метод швидкого зважування. Встановлене цим методом зменшення маси листків відповідає кількості випарованої води.

### Хід роботи:

**Завдання 1.** Вивчити гідроактивну реакцію продохів.

Виготовити мікропрепарати нижнього епідермісу листків традесканції (свіжих і прив'ялих), помістити їх у краплину води. Знайти продохи і описати їх стан та позначити основні елементи продохового апарату.




---



---



---



---



---

Відсмоктати воду фільтрувальним папером і замінити її 5%-ним розчином гліцерину. Які рухи продохів спостерігаються? Чому? Які зміни відбуваються через 20 хв.?

---



---



---



---



---

Замінити гліцерин водою. Для цього з однієї сторони покривного скельця нанести краплину води, а з іншої відсмоктати гліцерин фільтрувальним папером. Описати, як зміниться стан продохів? Пояснити ці зміни.

---



---



---



---



---

**Завдання 2.** Визначити інтенсивність транспірації досліджуваних рослин.

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 3-4хв. Зробити повторне зважування, також відмітити час, записати масу листка. Якщо випаровування іде повільно, можна збільшити експозицію до 5хв. Визначити площу дослідного листка, з точністю до 1 мм<sup>2</sup>, міліметровий папір.

Дані записати у таблицю:

№	Об'єкт	Час зважування		Експозиція, год.	Маса, мг		Випарувано води, мг	Площа, дм <sup>2</sup>	Інтенсивність транспірації, мг/дм <sup>2</sup> ·год.
		I-го	II-го		I-а	II-а			
1									
2									
3									
4									

**Завдання 3.** Інтенсивність транспірації  $I_T$  (мг/дм<sup>2</sup>·год) обчислити за формулою:

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

де:  $m$  – кількість випаруваної води, мг;

$S$  – площа листкової пластинки, дм<sup>2</sup>;

$t$  – час експозиції, год.

Одержані величини інтенсивності транспірації записати у таблицю.

**Висновки:**

---



---



---



---

**Дайте відповіді на питання:**

1. Які особливості будови замикаючих клітин продику визначають зміну просвіту продигової щілини при зміні величини тургорного тиску цих клітин?

---



---



---



---

2. Скільки води випарує рослина за 15хв., якщо інтенсивність транспірації 150г/м<sup>2</sup>тод., а площа листків 270 см<sup>2</sup>?

---



---



---

---

---

3. Які фізіологічні процеси, що приводять до зміни тургорного тиску, відбуваються в замикаючих клітинах продохів під дією світла?

---

---

---

---

4. Пагін, зважений після зрізання, має масу 15,37г, а через 3 хв. – 15,28г. Площа листків пагона дорівнює 320 см<sup>2</sup>. Визначити інтенсивність транспірації.

---

---

---

---

5. Пагін з площею листків 1200см<sup>2</sup> за 3хв. випарував 0,06г води. За тих же умов з вільної водної поверхні площею 0,3дм<sup>2</sup> за 3 год. випарувалось 1,125г. Визначити відносну транспірацію.

---

---

---

---

## Лабораторна робота № 5

### Тема: ВИЗНАЧЕННЯ ПОКАЗНИКІВ ТРАНСПІРАЦІЙНОГО ПРОЦЕСУ – ІНТЕНСИВНОСТІ ТА ВІДНОСНОЇ ТРАНСПІРАЦІЇ

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

**Обладнання і матеріали:** листки дослідних рослин, торсійні та технічні ваги, різноважки, чашки Петрі, міліметровий папір, лінійки.

Транспірація – процес випаровування води наземними частинами рослин, в основному листками. Інтенсивність транспірації – це кількість води, що випаровується за одиницю часу одиницею листкової поверхні. У більшості рослин величина цього показника вдень становить від 150 до 2500 мг/дм<sup>2</sup>·год., а вночі – від 20 до 200 мг/дм<sup>2</sup>·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 випарованої 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 5 хв.

Визначити площу дослідного листка з точністю до  $1 \text{ мм}^2$ , 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 випарованої 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		Випаровано води, мг	Площа, $\text{дм}^2$
	I-го	II-го		I-а	II-а		
Листок Посудина з водою							

**Завдання 3.** За одержаними даними провести розрахунки.

Інтенсивність транспірації ( $I_t$ ) обчислити за формулою:

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

де,  $m$  – кількість випарованої води, мг;



$S$  – площа листкової пластинки,  $\text{дм}^2$ ;

$t$  – час експозиції, год.;

Інтенсивність евапорації ( $I_e$ ) обчислити за тією ж формулою.

За одержаними даними розрахувати величину відносної транспірації.

$$BT = \frac{Im}{Ie} \cdot 100$$

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

**Висновки :**

---



---



---



---



---



---



---



---

**Дати відповіді на 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 продигових 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 № 6

### 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.

**Обладнання і матеріали:** пророщені паростки пшениці, ячменю, жита та інших злаків, 10%-ний розчин NaCl, сніг або подрібнений лід, гаряча вода, скляні ковпаки, чашки Петрі, електроплитка, термометр.

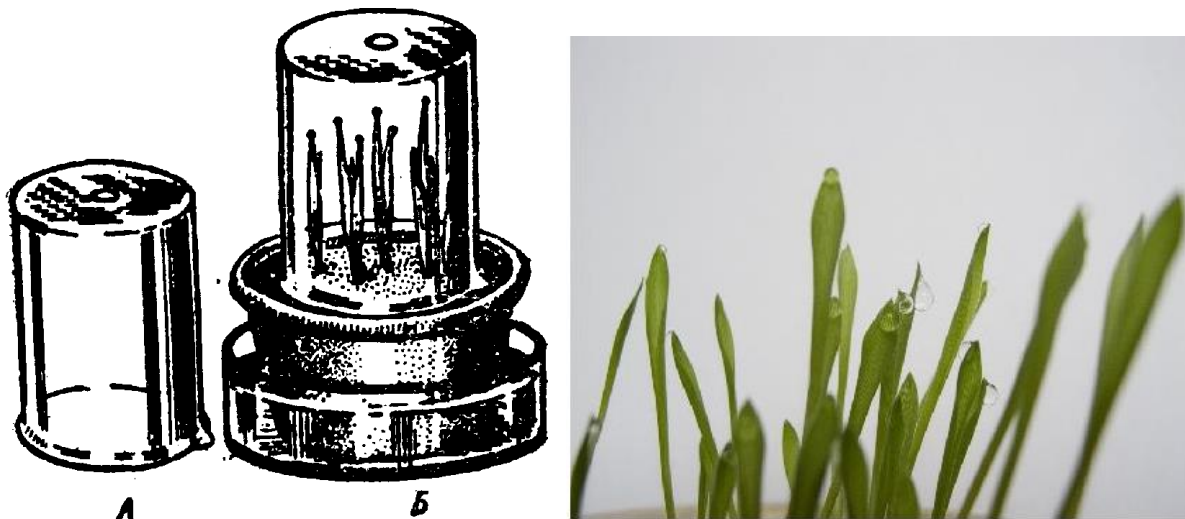
Коренева система не тільки всмоктує воду з ґрунту, але й активно нагнітає її в стебло з певною силою, яка називається кореневим тиском. Якщо кількість води, що нагнітається кореневим тиском, більша кількості води, що випаровується надземними органами, то спостерігається гутація – виділення краплини рідини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

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.



Установка для вивчення гутації:

А – стакан з отвором в дні; Б – загальний вид установки

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 гутти 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 досліджу	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 досліджу, спів ставити варіанти 1 та 4, 1 та 2, 2 та 3. зробити відповідні висновки. Замалювати проросток пшениці з краплиною гути.

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

**Висновки :**

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

**Дати відповіді на 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?

---

---

---

2. Які особливості водного режиму різних екологічних груп рослин?

---

---

---

---

---



## Лабораторна робота № 7

### Тема: ФІЗИЧНІ ТА ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ХЛОРОФІЛУ

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

**Обладнання і матеріали:** рослинний матеріал, спирт, бензин, ацетон, 20%-ний розчин NaOH, 20%-ний розчин HCl, пробірки в штативах, фарфорові ступки з товкачиками, вага, фільтрувальний папір, лійки, мірні пробірки, електроплитка.

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 системи десяти подвійних зв'язків і магнію зумовлюють характерний для хлорофілу зелений колір. При дії кислот іон магнію заміщується двома протонами, при цьому утворюється сполука феофітин, яка має бурий колір. Якщо на феофітин подіяти солями міді, то замість двох протонів в ядро входить метал, зворотньо відновлюється металоорганічний зв'язок і знову з'являється зелене забарвлення.

Хлорофіл має здатність до флюоресценції. Це свічення речовин під час поглинання 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 0,5г зелених листків у фарфоровій ступці в 5мл води, настояти 5хв. і профільтрувати. Отримати так само спиртову, бензинову та ацетонову витяжки. Порівняти колір витяжок і зробити висновок про ступінь розчинності хлорофілу у різних розчинниках.

---

---

---

---

Спиртову витяжку хлорофілу настояти на яскравому світлі 10-15хв. Розглянути витяжку на світлі і відмітити забарвлення. Як зміниться колір витяжки при розгляданні її на темному фоні? Пояснити.

---

---

---

---

**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  $\text{HCl}$ , перемішати. Як і чому змінився колір?

Записати рівняння реакції:

---

---

---

---

До 2 мл одержаного у попередньому завданні розчину додати кілька кристаликів оцтової кислоти міді і нагріти. Які зміни відбулись? Чому?

---

---

---

---

Записати рівняння реакції:

---

---

---

---

До спиртової витяжки пігментів додати 1 мл 20%-ного розчину лугу, нагріти до кипіння. Які зміни спостерігаються? Записати рівняння хімічної реакції:

---

---

---

---

До охолодженого розчину долити рівну за об'ємом кількість бензину, 2-3мл води і перемішати. Утворюються два шари – в одному жовті пігменти, в другому лужна сіль хлорофілінової кислоти і вільні спирти – метиловий і фітол. Зробити малюнок, що характеризує процес розділення пігментів.

**Висновки:**

---

---

---

---

---

**Дати відповіді на питання:**

1. Як пояснити, що довжина хвилі променів флюоресценції більша довжини хвилі червоних променів, що поглинаються хлорофілом?

---

---

---

---

---

2. За допомогою якої реакції можна довести, що хлорофіл є складним ефіром?

---

---

---

---

---

3. За допомогою якої реакції можна довести, що в молекулі хлорофілу міститься атом магнію?

---

---

---

---

---

4. До розчину феофітину добавили кілька кристаликів оцтової кислоти міді і нагріли до кипіння. Як зміниться при цьому забарвлення розчину? Чому?

---

---

---

---

5. Експериментально встановлено, що інтенсивність флюоресценції у хлорофілу в розчині в 10 разів вища, ніж в нативному стані (в живій пластиді). Чим це можна пояснити?

## Лабораторна робота № 8

### Тема: РОЗДІЛЕННЯ ПІГМЕНТІВ ЗЕЛЕНОГО ЛИСТКА МЕТОДОМ ПАПЕРОВОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ

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

**Обладнання і матеріали:** листки різних видів рослин, ацетон, бензин,  $\text{CaCO}_3$ , фарфорові ступки з товкачками, 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 нерухому фазу розчинника (найчастіше воду). Інший органічний розчинник, що частково або зовсім не змішується з водою, є рухомим. 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 рухомим 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  $\text{CaCO}_3$ , 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.

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

**Висновки :**

---

---

---

---

---

---

---

---

**Дати відповіді на питання та розв'язати задачі:**

1. На чому базується метод паперової хроматографії?

---

---

---

2. В якому співвідношенні у рослинному організмі наявні хлорофіл а і b?

---

---

---

3. Чому хлорофіл а 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 № 9

### Тема: ВИЗНАЧЕННЯ КІЛЬКІСНОГО ВМІСТУ ХЛОРОФІЛІВ У ВИТЯЖЦІ

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

**Обладнання і матеріали:** листки різних видів рослин,  $\text{CuSO}_4$ ,  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ , 7%-ний водний розчин аміаку, 96%-ий етиловий спирт, мірні колби на 100 мл, мірні циліндри і пробірки, мірні піпетки, фарфорові ступки з товкачками, лійки, фільтрувальний папір, хімічні склянки, ножиці, ваги.

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  $\text{CaCO}_3$ , 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.

---



---

---

---

---

**Висновки:**

---

---

---

---

---

---

**Дати відповіді на 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.

---

---

---

---

## Лабораторна робота № 10

### Тема: ВИЗНАЧЕННЯ ІНТЕНСИВНОСТІ ДИХАННЯ ЗА КІЛЬКІСТЮ ВИДІЛЕНОЇ ВУГЛЕКИСЛОТИ (ЗА МЕТОДОМ П. БОЙСЕН-ІЄНСЕНА)

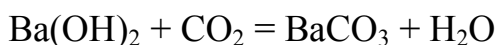
**Мета:** Оволодіти методикою визначення інтенсивності дихання за кількістю  $\text{CO}_2$ , що виділяє рослина в процесі дихання.

**Обладнання і матеріали:** скляні колби, гумові корки, марлеві мішечки, бюретки, 0,1 н розчин  $\text{Ba}(\text{OH})_2$ , 0,1н розчин  $\text{HCl}$ , фенолфталеїн, сухе і проросле насіння, ваги з різноважками, ножиці.

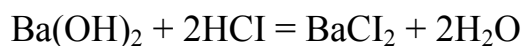
Інтенсивність дихання можна визначити: 1) по кількості виділеної вуглекислоти; 2) по кількості поглинутого кисню; 3) по витраті сухої речовини. Всі ці показники розраховуються на одиницю маси за одиницю часу. При диханні рослина поглинає  $\text{O}_2$  та виділяє  $\text{CO}_2$ .

До кількісних методів визначення дихання у рослин належить метод П. Бойсен-Ієнсена. За цим методом визначають інтенсивність дихання за кількістю виділеної вуглекислоти, що виділяється в процесі дихання одиницею маси рослини за одиницю часу. В дослідженнях необхідно встановити, яке насіння буде дихати інтенсивніше: сухе, вологе чи проросле.

У дві колби, дослідну (з рослинним матеріалом) і контрольну, наливають певну кількість  $\text{Ba}(\text{OH})_2$ , який здатний реагувати з  $\text{CO}_2$  повітря. При диханні досліджуваного 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:



За різницею титрування бариту контрольної і дослідної колб, прямо пропорційній кількості виділеного при диханні  $\text{CO}_2$ . 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  $\text{CO}_2$ , поглинутого рослинним матеріалом:

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

б) Зробити наважку рослинного матеріалу (по 5г сухою, 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 і контрольну) поставити в однакові умови на 0,5 год.

**Завдання 2.** Зняти результати дослідів.

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

Результати дослідів записати у таблицю:

Об'єкт	Маса проби, г	Тривалість дослідів, (год.)	Затрачено на титрування 0,1 н р-ну НСІ (мл)		Поправка до титру НСІ	Іггесивність дихання, мг/г·год.
			Дослід	Контроль		

**Завдання 3.** Обчислити інтенсивність дихання за формулою:

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

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

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

b – кількість 0,1н розчину НСІ, витраченої на титрування дослідів, мл;

2,2 – поправка до титру (кількість CO<sub>2</sub>, еквівалентна 1мл 0,1н розчину НСІ);

t – тривалість дослідів, год.;

n – наважка рослинного матеріалу, г;

Порівняти інтенсивність дихання досліджуваних об'єктів (сухого та пророслого насіння).

**Висновки:**

---



---



---



---



---



---



---

**Дати відповіді на питання та розв'язати задачі:**

1. Які зовнішні і внутрішні чинники впливають на інтенсивність дихальної функції?

---

---

---

---

---

2. В дві колби налито однакову кількість розчину  $\text{Ba}(\text{OH})_2$ . Колби тісно закриті пробками з кріючками, до яких підвішені марлеві мішечки з однаковими наважками пророслого і непророслого насіння. Через певний час розчин в колбах протитрували соляною кислотою. На титрування якої колби піде більше кислоти? Чому?

---

---

---

---

---

3. Були взяті дві наважки насіння по 10 г кожна. Одну наважку висушили при  $100^\circ\text{C}$  для визначення абсолютно сухої маси, яка виявилась рівною 8,8 г. Другу порцію насіння пророщували протягом двох тижнів в темряві на чистому піску, змоченому дистильованою водою. Одержані проростки мали сиру масу 21,7 г, а абсолютно суху – 7,0 г. Як пояснити зміну сирої і сухої маси у процесі проростання?

---

---



---

---

4. 10 г бруньок виділили за 20 хв. 2 мг  $\text{CO}_2$ . Визначити інтенсивність дихання на 1 г сухої маси за 1 год., якщо відомо, що вміст води в бруньках становить 60%.

---

---

---

---

---

---

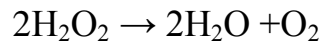
## Лабораторна робота №11

### Тема: ВИВЧЕННЯ АКТИВНОСТІ КАТАЛАЗИ У РОСЛИН

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

**Обладнання і матеріали:** мікроскопи, предметні та покривні скельця, 1%-ний розчин і 3%-ний розчин  $\text{H}_2\text{O}_2$ , фарфорові ступки з товчачиками, бюретки, лійки, фільтрувальний папір, 10% р-н  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 0,1н р-н  $\text{KMnO}_4$ , досліджувані рослини, ваги, різноважки, пробірки в штативах.

Каталаза належить до класу оксидоредуктаз і розщеплює переоксид водню на воду і молекулярний кисень:



Завдяки цьому ферменту з рослинного організму виводиться дуже отруйна сполука – переоксид водню. Досить вагомою є роль каталази в постачанні молекул киснем тих рослинних тканин, куди його доступ є утрудненим.

За допомогою кількісного аналізу можна визначити кількість цього важливого ферменту в різних рослинних об'єктах.

#### Хід роботи:

**Завдання 1.** Визначити активність каталази в сухому і проростаю чому насінні злакових культур.

Для цього у дві пробірки налити 3%-ний розчин  $\text{H}_2\text{O}_2$ . В одну з них помістити 5-10 сухих насінин пшениці, в другу – 5-10 пророслих насінин.

За інтенсивністю виділення пухирців  $\text{O}_2$  встановити інтенсивність каталази удвох варіантах. Дати пояснення одержаним результатам.

---

---

---

---

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

а). 2-3 г свіжого рослинного матеріалу розтерти у фарфоровій ступці із 0,3 г  $\text{CaCO}_3$ . 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 відстояти 30-40 хв., після чого профільтрувати;

в) у дві склянки налити по 10 мл фільтрату. Вміст однієї склянки кип'ятити 2-3 хв. для інактивації ферменту (контроль). Після охолодження в обидві і склянки долити по 10 мл води і по 15 мл 1%-ного розчину  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Суміш перемішати та інкубувати 20-30 хв.;

г) після інкубації в обидві склянки додати по 2-3 мл 10%-ного розчину  $\text{H}_2\text{SO}_4$  і титрувати 0,1н розчином  $\text{KMnO}_4$  до слабо-рожевого забарвлення, яке не зникає протягом 1 хвилини. За різницею між титруванням контролю і дослідю визначити кількість перексиду водню, який розклався під час інкубації в перерахунку на 1 г наважки за формулою:

$$X = \frac{(a - b) \cdot t}{n}$$

де:  $X$  – активність каталази;

$a$  – кількість 0,1н розчину  $\text{KMnO}_4$ , яку витрачено на титрування контрольної колби, мл;

$b$  – кількість 0,1 н розчину  $\text{KMnO}_4$ , яку витрачено на титрування дослідної колби, мл;

$t$  – поправка до титру, яка дорівнює 1,7 (кількість мг  $\text{H}_2\text{O}_2$ , яка відповідає 1мл 0,1н розчину  $\text{KMnO}_4$ ;

$n$  – наважка рослинного матеріалу, г.

Одержані результати:

$a =$  \_\_\_\_\_

$b =$  \_\_\_\_\_

$n =$  \_\_\_\_\_

$X =$  \_\_\_\_\_

**Висновки:**

---



---



---



---

**Дати відповіді на питання:**

1. Яка фізіологічна роль каталази?

---



---



---

2. До якого класу належить фермент каталаза? Яка її хімічна природа?

---



---



---

Як продемонструвати дію каталази на розщеплення перексиду водню в клітинах?

---



---



---

## Лабораторна робота № 12

### Тема: МІКРОХІМІЧНИЙ АНАЛІЗ ПОПЕЛУ РОСЛИН

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

**Обладнання і матеріали:** попіл з рослинного матеріалу, 10%-ний р-н  $\text{NH}_3$ , 10%-ний р-н  $\text{HCl}$ , 10%-ний р-н  $\text{AgNO}_3$ , 1%-ний р-н  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 1%-ний р-н  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 1%-ний р-н  $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$ , 1%-ний р-н  $\text{HNO}_3$ , 1%-ний р-н  $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ , пробірки, лійки, фільтрувальний папір, скляні палички, предметні скельця, мікроскопи.

Для мікрохімічного методу потрібна невелика кількість матеріалу (попелу).

Попіл, що одержують при спалюванні рослин, містить не велику кількість елементів, серед яких розрізняють макро- і мікроелементи.

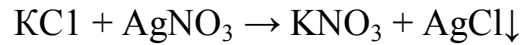
Вміст зольних елементів в рослинах коливається у широких межах, в залежності від виду та органу і в середньому становить 3-15%. Склад попелу різноманітний. Майже немає елементів, які не були б виявлені у попелі тієї чи іншої рослини. В залежності від кількісного вмісту окремих елементів їх поділяють 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, у другій – 10% розчином  $\text{HCl}$  (об'єм попелу повинен бути в 4 рази меншим об'єму розчинника). Добре розмішати скляною паличкою та відставити на 5-7 хвилин.

Профільтрувати одержані розчини у чисті пробірки.

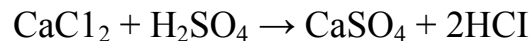
**Завдання 2.** Виявити у водному розчині попелу хлориди. Реактивом служить 10%-ний р-н  $\text{AgNO}_3$  (дослід проводиться у пробірці). При наявності хлоридів утворюється білий осад  $\text{AgCl}$ .



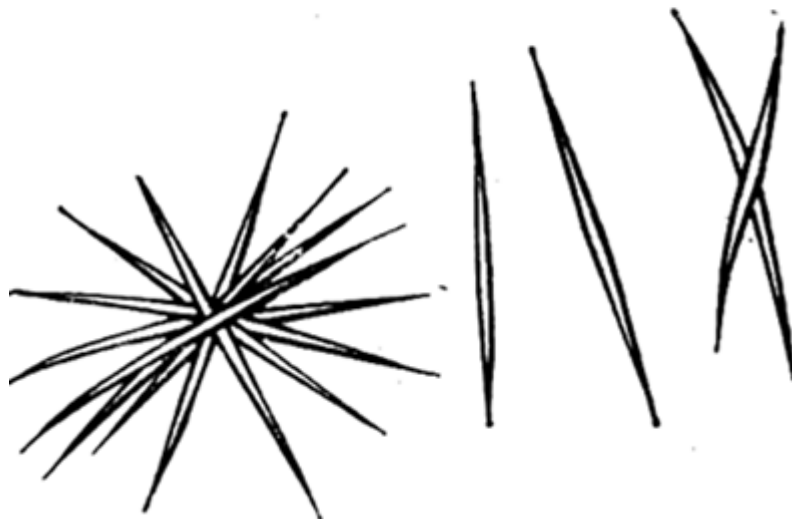
Іони  $\text{Cl}^-$  у витяжці \_\_\_\_\_

**Завдання 3.** Виявити у кислотному розчині попелу такі елементи: кальцій, магній, фосфор, залізо. Провести на предметних скельцях реакції на  $\text{Ca}$ ,  $\text{Mg}$  і  $\text{P}$ . Для цього за допомогою скляної палички нанести на предметне скло 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.

а) Реактивом на іон кальцію служить 1 %-ний розчин  $\text{H}_2\text{SO}_4$

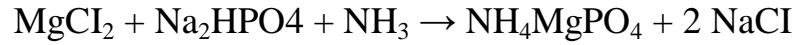


При наявності кальцію утворюється гіпс, що осаджується у вигляді голчастих кристалів. Іони  $\text{Ca}^{2+}$  у витяжці \_\_\_\_\_

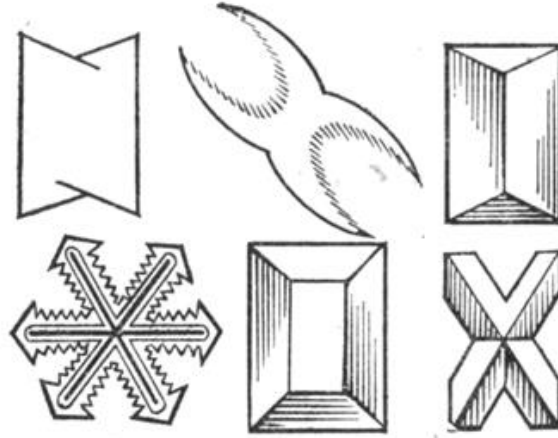


Кристали сульфату кальцію (гіпсу) під мікроскопом

б) Для виявлення магнію краплину кислотної витяжки попелу нейтралізувати водним розчином аміаку ( $\text{NH}_3$ ) і з'єднати каналом з 1%-ним розчином ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ).

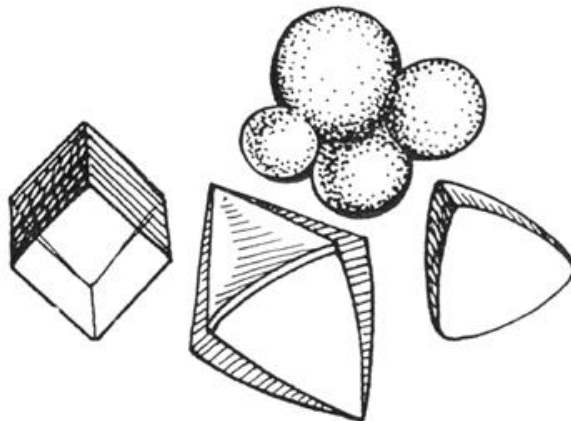


При наявності магнію утворюється фосфорноаміачномагнезіальна сіль, яка кристалізується у вигляді прямокутників, квадратів, зірочок.

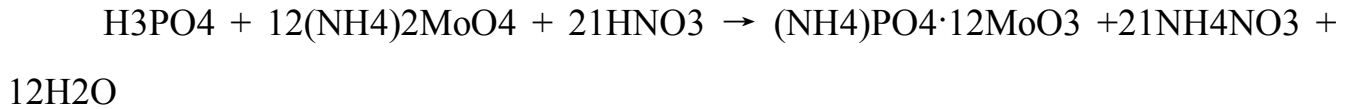


Кристали фосфорноаміачномагнезіальної солі

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

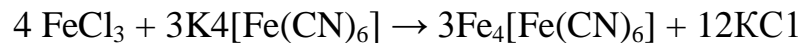


Кристали фосфорномолібдату амонію.



При наявності фосфору в результаті реакції утворюється зеленувато-жовтий осад фосфорномолібденового амонію з кристалами круглої, овальної, квадратної та ромбічної форм.

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.

**Висновок:**

---



---



---



---



---

**Дати відповіді на питання:**

1. Деякі мінеральні речовини вважаються основними, так вони являють складову частину головних органічних молекул у рослині. Назвіть 2 важливі органічні молекули, до складу яких входять:

а) азот; б) фосфор; в) сірка. Яку функцію виконують інші основні елементи, які не входять в структуру органічних молекул?



---

---

---

---

2. Нестача заліза в ґрунті викликає хлороз тканини між жилками молодих листків, тоді як нестача азоту обумовлює загальне пожовтіння старих листків. Чому нестача заліза і азоту впливає на тканини різного віку?

---

---

---

---

---

3. Який елемент, що входить до складу каталітичних центрів багатьох окисно-відновних ферментів (цитохромів, каталази, пероксидази), необхідний для утворення попередників хлорофілу?

---

---

---

---

---

4. Що являє собою візуальна діагностика мінерального живлення рослин? Назвіть зовнішні ознаки нестачі азоту, фосфору, калію, кальцію, заліза і магнію в живленні рослин.

---

---

---

---

---

---

---

---

### Лабораторна робота № 13

## ТЕМА: КИСЛОТНИЙ ГІДРОЛІЗ КРОХМАЛЮ

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

**Обладнання і матеріали:** крохмаль, 20%-ний розчин HCl, розчин J в KI, хімічні склянки, колби, лійки, мірні циліндри, пробірки (7) у штативі, ваги технічні, різноважки, електроплитка.

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 кислота	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.

---



---



---

**Висновок**

---

---

---

---

---

---

---

**Дати відповіді на 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?

---

---

---

---

---

---

**ДЛЯ ПОДАТОК**

**ДЛЯ ПОДАТОК**



## **Навчально-методичне видання**

**Машевська Алла Степанівна**  
**Єрмейчук Тамара Музаффарівна**  
**Голуб Валентина Олександрівна**

## **Фізіологія та біохімія рослин**

Методичні вказівки до виконання лабораторних робіт (робочий зошит) для студентів II курсу денної форми навчання спеціальності «Лабораторна діагностика» медико-біологічного факультету

*Друкується в авторській редакції*

Формат 60x84 <sup>1</sup>/<sub>16</sub>. Обсяг 2,32 ум. друк. арк., 2,27 обл.-вид. арк.  
Наклад 100 пр. Зам. 577. Видавець і виготовлювач – Луцьк: ФОП Байбула К.В.