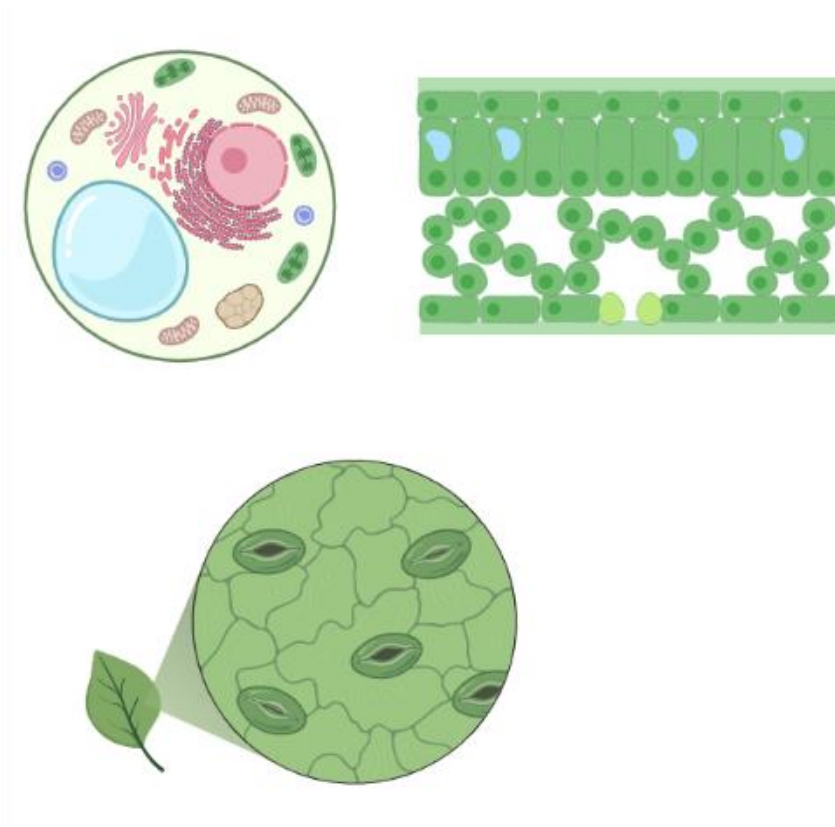


**Міністерство освіти і науки України**  
**Національний університет «Чернігівська політехніка»**  
**ІНІ бізнесу, природокористування і туризму**  
Кафедра аграрних технологій та лісового господарства

### **Фізіологія рослин з основами біохімії**

Методичні вказівки до виконання лабораторних робіт  
для здобувачів вищої освіти денної форми навчання за освітнім ступенем  
бакалавр 1 курсу зі спеціальності 205 «Лісове господарство»



**ЗАТВЕРДЖЕНО**  
на засіданні кафедри  
аграрних технологій та лісового  
господарства  
протокол №2 від 09.02.2023

Чернігів 2023

Фізіології рослин з основами біохімії. Методичні вказівки до виконання лабораторних робіт для здобувачів вищої освіти денної форми навчання за освітнім ступенем бакалавр I курсу зі спеціальності 205 «Лісове господарство» / Укл.: Шевченко Л.А., Кудряшова К.М., Бондар І.М. Чернігів: НУ «Чернігівська політехніка», 2023. 64 с.

Укладачі: ШЕВЧЕНКО ЛЮБОВ АНАТОЛІЇВНА, доцент кафедри аграрних технологій та лісового господарства, кандидат сільськогосподарських наук;  
КУДРЯШОВА КАТЕРИНА МИКОЛАЇВНА, доцент кафедри аграрних технологій та лісового господарства, кандидат економічних наук;  
БОНДАР ІРИНА МИКОЛАЇВНА, старший викладач кафедри аграрних технологій та лісового господарства

Відповідальний за випуск: Шевченко Л.А., доцент кафедри аграрних технологій та лісового господарства, кандидат сільськогосподарських наук

Рецензент: Волкогон В. В. , доктор сільськогосподарських наук, професор, академік НААН

## ЗМІСТ

<b>Передмова</b> .....	04
<b>Лабораторна робота 1.</b> Плазмоліз і деплазмоліз у рослинних клітинах .....	05
<b>Лабораторна робота 2.</b> Вплив іонів Калію і Кальцію на в'язкість цитоплазми.....	10
<b>Лабораторна робота №3.</b> Фізичні та хімічні властивості пігментів рослин. Розділення пігментів по Краусу.....	14
<b>Лабораторна робота №4.</b> Визначення сисної сили (водного потенціалу) тканин рослин за зміною їх розмірів (метод Уршпрунга).....	20
<b>Лабораторна робота №5.</b> Виділення рослинних пігментів та вивчення їх фізико-хімічних властивостей.....	25
<b>Лабораторна робота №6.</b> Визначення інтенсивності транспірації та відносної транспірації ваговим методом.....	29
<b>Лабораторна робота №7.</b> Виявлення пероксидазної активності в картопляному соку .....	33
<b>Лабораторна робота №8.</b> Діагностика пошкодження рослинних тканин за зміною проникності мембран клітини .....	37
<b>Лабораторна робота №9.</b> Визначення загальної, робочої і неробочої адсорбційної поверхні кореневої системи .....	42
<b>Лабораторна робота №10.</b> Мітоз в апікальній меристемі корінців цибулі ...	47
<b>Лабораторна робота №11.</b> Явище гутації. Вплив умов наколишнього середовища на гутацію рослин .....	52
<b>Лабораторна робота №12.</b> Визначення інтенсивності фотосинтезу за кількістю накопиченої сухої речовини (метод листкових половинок) .....	55
<b>Лабораторна робота №13.</b> Визначення жаростійкості рослин за Ф.Ф.Мацковим .....	58
<b>Бібліографія</b> .....	64

## ПЕРЕДМОВА

**Методичні вказівки до виконання лабораторних робіт з фізіології рослин з основами біохімії** розроблені для ЗВО за спеціальністю 205 «Лісове господарство». Лабораторні роботи мають теоретичні відомості з відповідних тем, та послідовні етапи їх виконання. Для фіксації отриманих результатів та їх інтерпретації є відповідні поля та таблиці. Висновки формулюються відповідно до поставленої мети роботи. У кінці кожної лабораторної роботи є перелік відео-контенту рекомендованого до перегляду і для зручності представлений у вигляді QR-кодів.

Практична частина лабораторної роботи виконується з викладачем на заняттях відповідно до розкладу. Самостійно кожен ЗВО формулює висновки та дає відповіді на контрольні питання, розв'язує задачі.



## Лабораторна робота 1

# ПЛАЗМОЛІЗ І ДЕПЛАЗМОЛІЗ У РОСЛИННИХ КЛІТИНАХ

**Мета роботи:** в результаті особистих спостережень визначити умови проходження плазмолізу та деплазмолізу в рослинних клітинах.

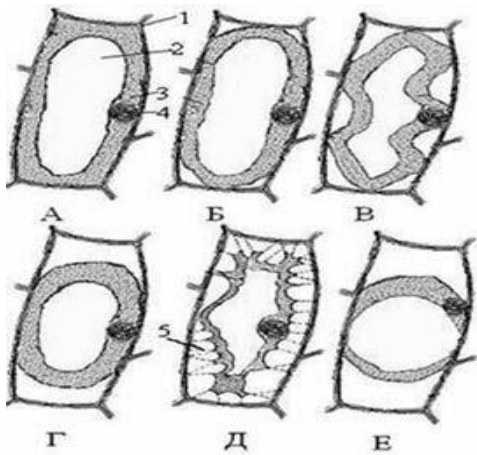
**Обладнання, об'єкти, реактиви:** скальпелі, препарувальні голки, предметні скельця, накривні скельця, мікроскопи; луски синьозабарвленої цибулі або інші об'єкти; 1М розчини плазмолітиків, скляні палички, стаканчики з водою, фільтрувальний папір, пінцети.

### Теоретичні відомості

Наочним проявом осмотичних і життєздатних властивостей рослинних клітин є притаманне їм явище плазмолізу та деплазмолізу. *Плазмоліз* – це явище відокремлення протопласта від клітинної стінки внаслідок втрати ним води за рахунок осмосу.

Плазмоліз можна спричинити, помістивши клітини в гіпертонічний розчин, тобто розчин, концентрація якого більша, ніж вакуолярного соку. Внаслідок цього більш концентрований зовнішній розчин відбирає воду від вакуолі, об'єм якої зменшується, і шар цитоплазми, що притиснутий вакуолею до оболонки, відокремлюється від неї. Через деякий час, у зв'язку з тим, що цитоплазматичні мембрани пропускають не тільки воду, а й деякі речовини, у вакуолях підвищується концентрація клітинного соку. Тоді клітина починає осмотично поглинати воду. Об'єм плазмолізованого протопласта поступово збільшується, цитоплазма наближається до клітинної стінки – відбувається *деплазмоліз*. За швидкістю деплазмолізу роблять висновок про швидкість проникнення у вакуолі різних речовин. Деплазмоліз істотно прискорюється у разі заміни плазмолітика на воду.

Плазмоліз найкраще спостерігати у рослин із забарвленим клітинним соком, оскільки сама цитоплазма безбарвна. Тому для роботи краще використовувати епідерму синьозабарвлених лусок цибулі, червоної капусти, традесканції, листки елодеї та валіснерії. За певних умов освітлення препарату та стану цитоплазми на початковій фазі плазмолізу можна спостерігати її тоненькі тяжі, що тягнуться від поверхні протопласта до пор в оболонці. Це так звані *плазмодесмові нитки* (нитки Хехта), які свідчать про в'язкість та еластичність цитоплазми. Залежно від цього виникають різні форми плазмолізу: кутовий, увігнутий, опуклий, судомний, ковпачковий (рис. 1.).



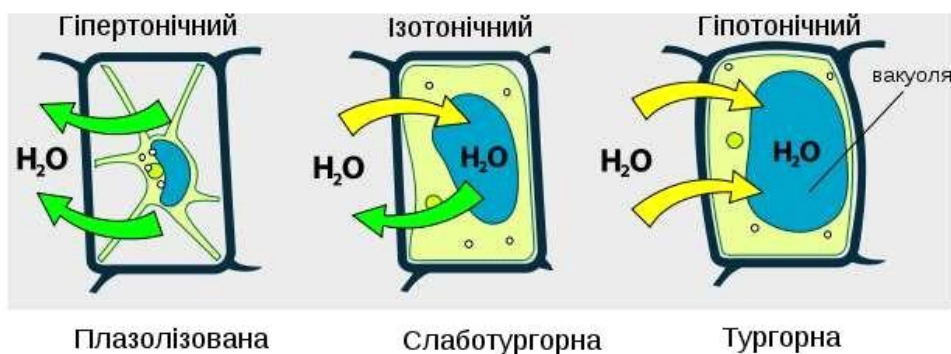
**Рис. 1.** Різні форми плазмолізу в клітинах епідерми цибулі:

- А** – плазмоліз відсутній; **Б** – кутовий;  
**В** – увігнутий; **Г** – опуклий;  
**Д** – судомний; **Е** – ковпачковий;  
 1 – клітинна стінка; 2 – вакуоля;  
 3 – цитоплазма; 4 – ядро

На форму плазмолізу впливають також йони плазмолітика. Так, йони калію зменшують, а йони кальцію підвищують в'язкість цитоплазми. Інколи навіть у суміжних клітинах спостерігаються різні форми плазмолізу, що свідчить про їхню неоднорідність. Важливо, що здатність клітини до плазмолізу є достовірним показником її життєздатності та структурно-функціональної цілісності. За повільного плазмолізу клітини тривалий час залишаються живими. За наявності доступної для клітини води вони легко відновлюють стан тургору. Тривалий плазмоліз зумовлює загибель клітин. Явище плазмолізу використовують для визначення осмотичного потенціалу, в'язкості цитоплазми, проникності клітинних мембран тощо.

Рослинна клітина проявляє властивості осмотичної системи.

Функцію напівпроникної оболонки виконують цитоплазматичні мембрани (*плазмалема* і *тонопласт*), а осмотично активною розчину – клітинний сік. Якщо живі рослинні клітини експонувати у розчинах осмотично активних речовин різної концентрації (кожен з яких має певну величину осмотичного тиску), то їх реакція буде неоднаковою. Розчини, осмотичний тиск яких менший за осмотичний тиск клітинного соку, називають *гіпотонічними*. Якщо осмотичний тиск розчину більший за осмотичний тиск клітинного соку, то він *гіпертонічний*. Коли осмотичний тиск розчину дорівнюватиме осмотичному тиску клітинного соку, то його називають *ізотонічним*. (Рис.2)



**Рис. 2.** Види розчинів

У разі занурення клітин у гіпертонічний розчин, з клітинного соку в середовище надходить вода до вирівнювання осмотичних тисків розчину і клітинного соку. Внаслідок втрати води об'єм протопласта зменшується, він перестає тиснути на клітинну стінку, втрачається тургор, цитоплазма скорочується, ущільнюється – спостерігається явище плазмолізу. Коли протопласт починає відділятися від клітинної стінки по кутах клітини спостерігається *початковий* або *кутовий* плазмоліз, коли в багатьох місцях *увігнутий*, коли протопласт повністю відділяється від клітинної стінки – *опуклий* плазмоліз. Форма плазмолізу залежить також від в'язкості протоплазми та проникності її шарів. *Ковпачковий* плазмоліз відбувається під дією катіонів і аніонів солей, які проникають крізь плазмалему в мезоплазму. Крізь тонопласт ці солі майже не проникають, або проникають дуже повільно. Накопичуючись у мезоплазмі, катіони солей зумовлюють її набухання, в результаті чого утворюються ковпачки на кінцях плазмолізованої цитоплазми (ковпачковий плазмоліз).

### **Хід роботи.**

1. З опуклої частини луски цибулі або листка традесканції зняти пінцетом шматочки забарвленої епідерми і швидко покласти у краплину відстояної водогінної води нанесену на предметне скло та накрити накривним скельцем.

2. На малому збільшенні знайти ділянки препарату, де клітини найкраще забарвлені і не деформовані. Зарисувати форму і стан кількох типових клітин.

3. З одного боку накривного скельця нанести краплину 1 М розчину сахарози або NaCl, а з протилежного боку смужкою фільтрувального паперу відтягнути з-під накривного скельця воду.

*Примітка.* За кілька хвилин видно, як у забарвлених клітинах протопласт починає відокремлюватися від клітинної стінки (насамперед у кутах клітини). Поступово об'єм протопласта зменшується, поки він не перетвориться на кулясте утворення в центрі клітини, або поблизу однієї з клітинних стінок. Забарвлення вакуолі стає значно яскравіше за рахунок зменшення її об'єму.

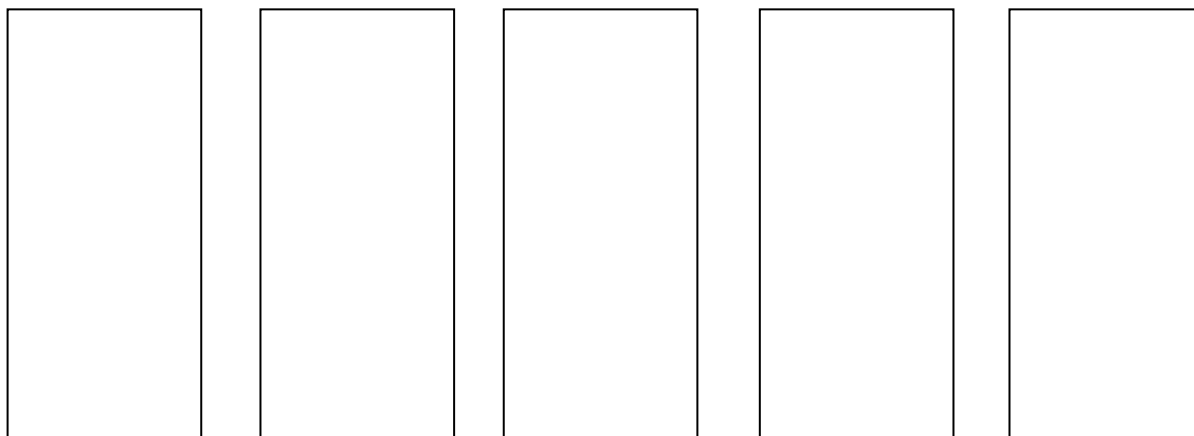
4. Розчин сахарози з-під накривного скельця відтягнути смужкою фільтрувального паперу та замінити на воду, при цьому спостерігають деплазмоліз рослинної клітини.

5. Замалювати різні форми плазмолізу та деплазмолізу кількох клітин.

6. Зробити висновки.

**Результати та висновки**

1. *Форми плазмолізу та деплазмолізу кількох клітин (замалювати)*



*кутовий*

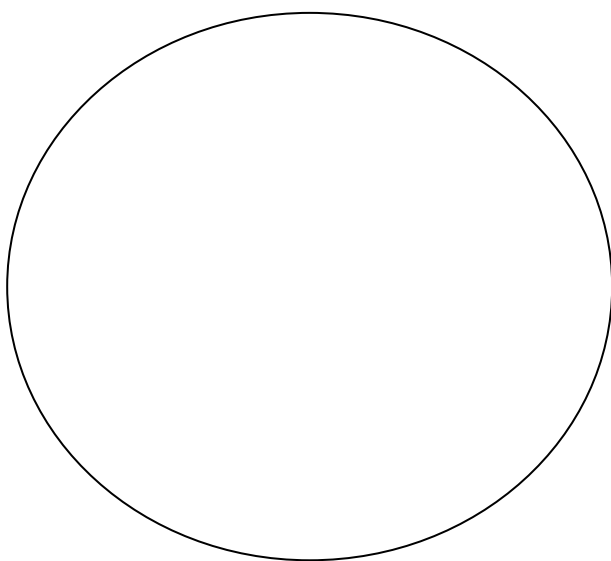
*увігнути*

*ковпачковий*

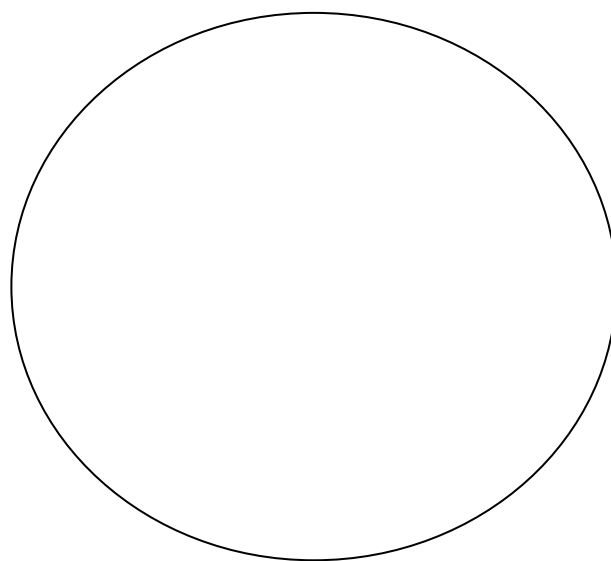
*опуклий*

*судомний*

2. *Фото власних спостережень під мікроскопом (прикріпити/вставити)*



*Клітини у стані тургору*



*Плазмолізовані клітини*

**Висновок** \_\_\_\_\_

---

---

---

---

---

---





Контрольні запитання та завдання:

1. Що міститься між плазмалемою і тонопластом?
2. Що таке нитки Хехта, коли вони виникають?
3. Чому плазмоліз спостерігається лише в живих клітинах?
4. Чи життєздатна плазмолізована клітина? Як це можна перевірити?
5. Чи можна спостерігати плазмоліз у безбарвних клітинах?
6. Чим плазмоліз відрізняється від циторізу?
7. Які осмотично активні речовини містить вакуолярний сік?

**Глосарій** (дайте визначення поняттям)



*Циторіз* – \_\_\_\_\_

*Плазмоліз* – \_\_\_\_\_

*Плазмалема* – \_\_\_\_\_

*Тонопласт* – \_\_\_\_\_

*Осмоз* – \_\_\_\_\_

*Тургор* – \_\_\_\_\_



*Плазмоліз, деплазмоліз  
рослинної клітини*



*Плазмоліз і деплазмоліз у  
рослинних клітинах*



*Вибіркова проникність  
мембран та явище осмосу*



## Лабораторна робота 2

# ВПЛИВ ІОНІВ КАЛІЮ І КАЛЬЦІЮ НА В'ЯЗКІСТЬ ЦИТОПЛАЗМИ

**Мета роботи:** в результаті особистих спостережень визначити умови, які впливають на властивості цитоплазми в рослинних клітинах, змінюючи її в'язкість.

**Матеріали і обладнання:** 1) цибулина суня; 2) розчини на бідистиляті 1М  $KNO_3$ , 0.7М  $Ca(NO_3)_2$ , 1М розчин сахарози; 3) скальпель; 4) лезо бритви; 5) препарувальні голки; 6) мікроскоп; 7) предметні і покривні стекла; 8) олівець по склу; 9) шматочки фільтровального паперу.

## Теоретичні відомості

**Цитоплазма** – це основний компонент усіх живих клітин. Цитоплазма – напіврідка, прозора і в'язка гомогенна маса, розташована під клітинною оболонкою. Біологічні властивості цитоплазми є: рух, в'язкість, еластичність, вибірна проникність, подразливість, обмін речовин тощо. Цитоплазма входить до складу протопласта і представляє собою основну масу протопласта. Цитоплазма проявляє властивості порівняно в'язкої рідини, але водночас і деякі властивості твердого тіла. Еластичність – це здатність цитоплазми відновити свою форму після деформуючої дії. Вона зумовлюється здатністю клітинної мембрани змінювати розміри своєї поверхні за рахунок швидкого руйнування при плазмолізі і наступного утворення при деплазмолізі окремих ділянок. Еластичність має пристосувальне значення. Рослини з більш високою еластичністю цитоплазми краще витримують умови недостатньої зволоженості.

**В'язкість** – одна з найважливіших властивостей цитоплазми. Вона дуже сильно коливається залежно від виду рослини, а також від фаз її розвитку. У деяких рослин в'язкість цитоплазми трохи перевищує в'язкість води, а в інших сягає в'язкості гліцерину, що перевершує в цьому відношенні воду в 87 разів.

В'язкість цитоплазми тісно пов'язана з обміном речовин: чим вище в'язкість, тим зазвичай менш інтенсивний обмін. Висока в'язкість цитоплазми сприяє збільшенню стійкості рослин до підвищеної температури.

На різних етапах розвитку рослини ступінь в'язкості цитоплазми їх клітин змінюється. У фазі поділу клітини в'язкість висока, у фазі розтягу вона знижується в результаті сильного оводнення цитоплазматичного матрикса, а під час диференціації клітини знов зростає, внаслідок відведення води з колоїдів цитоплазми у вакуолю. Ступінь в'язкості цитоплазми клітин різних органів

залежить і від їх віку. Зміна ступеня в'язкості цитоплазми в онтогенезі органа відображає зміни її в онтогенезі клітини. В онтогенезі рослини в'язкість цитоплазми зростає до фази бутонізації, потім у фазі цвітіння знижується, а після закінчення цвітіння знов збільшується. Висока в'язкість цитоплазми характерна для клітин органів, які перебувають у стані спокою (насіння, бульби, цибулини). Зниження в'язкості цитоплазми відповідає більш інтенсивному обміну, тоді, як підвищена в'язкість, але не дуже висока, корелює з більшою стійкістю організму проти несприятливих умов навколишнього середовища.

Ступінь в'язкості цитоплазми залежить і від генотипу рослини, який визначає специфіку структури білків мікрофіламентів.

В'язкість цитоплазми зумовлюється також характером еко типу рослини. У видів степів і пустинь – вона висока, у мезофітів – трохи нижча, а у водяних рослин – лише трохи перевищує в'язкість води.

На в'язкість цитоплазми впливають не тільки внутрішні, але і зовнішні фактори. При низькій температурі тепловий рух мікрофіламентів загальмовується. Це сприяє стабілізації їх молекулярної сітки і підвищує в'язкість. При зростанні температури сітка мікрофіламентів руйнується і цитоплазма переходить у рідкий стан. В'язкість цитоплазми залежить і від наявності в середовищі тих чи інших катіонів: одновалентні катіони ( $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Li^+$ ) понижують її, а двох- і трьохвалентні ( $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Al^{3+}$ ) – підвищують.

Про в'язкість цитоплазм можна судити за часом. При великій в'язкості цитоплазма важко відстає від клітинної стінки, зберігаючи довгий час ввігнуті поверхні (ввігнутий плазмоліз). Якщо в'язкість цитоплазми мала, то ввігнутий плазмоліз швидко переходить у випуклий, а при високій оводненості цитоплазми, вона набухає, набуваючи форму ковпачків.

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

## Хід роботи

1. Нанести на чисті предметні стекла по краплині  $KNO_3$  і  $Ca(NO_3)_2$  (зробити на склі відповідні записи). Як контроль використати розчин сахарози, який не впливає на в'язкість цитоплазми.

2. Помістити в розчини зрізи епідермісу з пофарбованим клітинним соком, закрити покривним склом, відмітити час. Приступити до спостереження під мікроскопом, відмічаючи час настання плазмолізу у більшості клітин. Слідкувати за тим, щоб препарати не підсихали, вводячи час від часу під покривні стекла нові краплини розчинів. Результати записувати у таблицю.

3. Замалювати найбільш характерні клітини через 10-15 хвилин після занурення зрізів в розчини.

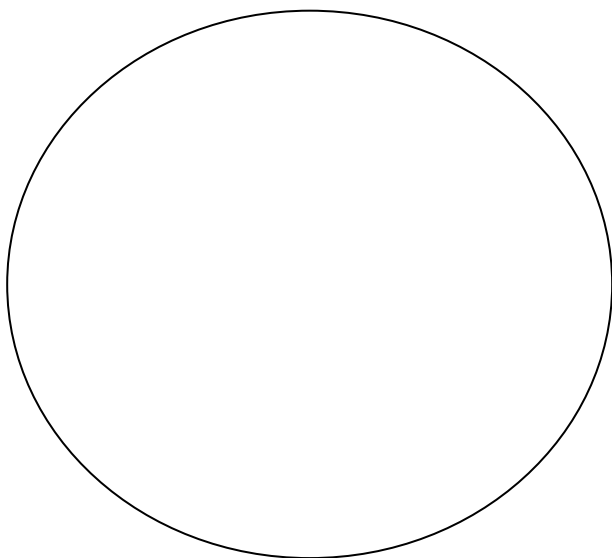
4. Зробити висновки про вплив катіонів на в'язкість цитоплазми.

## Результати та висновки

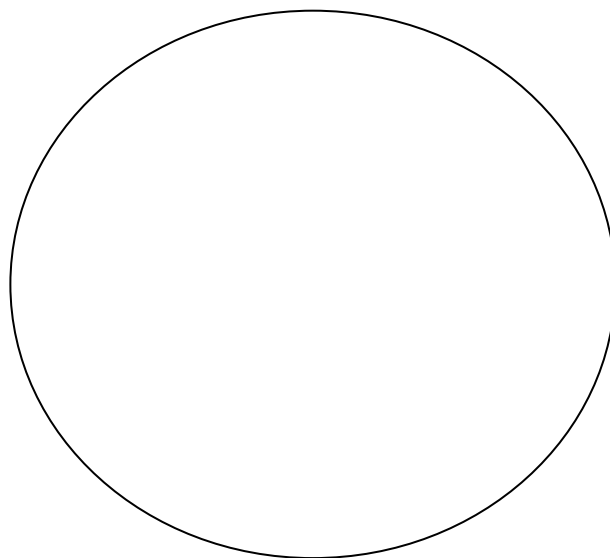
### 1. Фіксація часу настання плазмолізу

Плазмолітик	Час занурення в розчин	Час настання плазмолізу	
		ввігнутого	випуклого
$KNO_3$			
$Ca(NO_3)_2$			
Сахароза			

2. Зображення клітин епідермісу за дії різних плазмолітиків (замалювати або прикріпити/вставити фото мікропрепарату)



*Клітини епідермісу за дії  $KNO_3$*



*Клітини епідермісу за дії  $Ca(NO_3)_2$*

Висновок \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

---

---

---

---



**Контрольні запитання та завдання**

1. Де в клітині відбувається накопичення антоціанів?
2. Структурні компоненти цитоплазми.
3. Гіалоплазма, її склад і значення в метаболізмі клітини.
3. Властивості цитоплазми.
4. Які фактори впливають на в'язкість цитоплазми?

**Глосарій (дайте визначення поняттям)**



*Антоціани* – \_\_\_\_\_

*В'язкість цитоплазми* – \_\_\_\_\_

*Епідерміс* – \_\_\_\_\_

*Мікрофіламенти* – \_\_\_\_\_

*Плазмолітик* – \_\_\_\_\_

*Цитоплазма* – \_\_\_\_\_



*Ковпачковий плазмоліз  
(дія I н  $KNO_3$ )*



*Рух цитоплазми в клітинах  
листка елодеї*



*Рух цитоплазми*



## Лабораторна робота з

# ФІЗИЧНІ ТА ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ПІГМЕНТІВ РОСЛИН. РОЗДІЛЕННЯ ПІГМЕНТІВ ПО КРАУСУ

**Мета роботи:** в результаті особистих спостережень дослідити фізичні та хімічні властивості пігментів рослин, які приймають участь в процесі фотосинтезу, навчитись виконувати розділення пігментів методом Крауса.

**Матеріали і обладнання:** 1) свіжі або висушені листки кропиви, плюща або інших рослин; 2) 85% етиловий спирт; 3)  $\text{CaCO}_3$ ; 4) кварцовий пісок; 5) вазелін; 6) бензин; 7) ножиці; 8) фарфорові ступки (2шт.); 9) колби (2шт.); 10) лійки (2шт.); 11) скляна паличка; 12) паперові фільтри.

## Теоретичні відомості

**Фотосинтез** – процес засвоєння рослинами світлової енергії і використання її для утворення органічних речовин із вуглекислого газу і води. Цей процес протікає за участю багатьох ферментів і коферментів, у якому умовно виділяють дві фази: світлову, або фотохімічну, або темнову, або хімічну. Перша включає реакції поглинання хлорофілом та іншими пігментами квантів світла і наступного перетворення світлової енергії в хімічну на прикладі аденозинтрифосфорної кислоти (АТФ) і відновленого нікотинамідаденіндинуклеотидфосфата (НАДФ· $\text{H}_2$ ). В темновій фазі асимільована  $\text{CO}_2$  відновлюється до вуглеводів завдяки енергії, раніше накопиченій у формі НАДФ· $\text{H}_2$ .

У вищих рослин фотосинтез здійснюється у спеціальних клітинних органелах листків – хлоропластах, кількість яких сильно варіює залежно від виду рослин і тканин. Але, як правило, в листках їх кількість складає в середньому 20-30 пластид на клітину.

**Пігменти** – це речовини, що мають певний колір та виконують роль збирачів сонячного світла, необхідного для фотосинтезу. Розрізняють три основні класи пігментів: хлорофіли (зелені), каротини (жовті), ксантофіли (червоні). Вони мають дещо відмінні властивості, на цьому і базуються методи розділення пігментів. Саме розділенню пігментів за Краусом і присвячений цей проект.

**Хлоропласти** мають вигляд округлих або дископодібних тілець діаметром біля 5мк і товщиною 2-3мк. Зовні вони оточені двохмембранною оболонкою. Кожна мембрана має два шари білка, які розділені бімолекулярним шаром ліпідів. В середині оболонки розміщується строма, в яку занурені 40-50 великих гран.

Грани – добре видимі в електронний мікроскоп стоски обмежені ламелами уплещених мішечків, що називаються тилакоїдами. Число їх

коливається від 5-6 до декількох десятків. Крім того, в ламелах виявлені субодиниці – квантосоми, які мають форму сплющеної сфери діаметром 180-160  $\text{Å}^0$  і товщиною 100  $\text{Å}^0$ . Квантосоми – структурна і функціональна одиниця хлоропласта. Із ламелярними структурами гран пов'язане протікання світлових реакцій фотосинтезу. У стромі локалізовані ферменти, які беруть участь у темнових перетвореннях  $\text{CO}_2$ .

Таким чином, складна і тонка структурна організація хлоропласта забезпечує здійснення і просторове розрізнення окремих реакцій, а тим самим ефективний хід фотосинтезу.

В кінцевому підсумку вся сукупність життєвих явищ організму тісно пов'язана з фотосинтезом. Активність фотосинтетичного апарату, в свою чергу, визначається станом і потребами рослини.

Пігментна система хлоропласта представлена двома типами пігментів: зеленими – хлорофілами *a* і *b* і жовтими – каротинами і ксантофілами. Основним функціональним пігментом є хлорофіл *a*, який служить безпосереднім донором енергії для фотосинтетичних реакцій, інші пігменти лише передають поглинену ними енергію хлорофілу *a*.

За хімічною природою хлорофіли *a* і *b* – складні ефіри дикарбонової кислоти хлорофіліну і двох спиртів – метилового і одноатомного спирту фітолу. В зв'язку з чим їх можна визначити як фітилметилхлорофіліди.

Синтезується рослинами, особливо багато його у листях при переході рослин до цвітіння. Багаті на каротин корені моркви (в деяких сортах 31 мг%). звідси його назва, крім того з них він був вперше виділений. Також багато каротину містять такі плоди, як шипшина, обліпиха, смородина, горобина. Каротин здатний легко утворювати перекиси, в яких молекула кисню приєднується в місці подвійного зв'язку, а потім може брати участь у окисленні різноманітних сполук.

Пігменти із рослинної тканини екстрагують полярними розчинниками (етилловий спирт, ацетон), які руйнують зв'язок хлорофілів і ксантофілів з ліпопротеїдами пластид і забезпечують їх повне екстрагування. Для одержання витяжки пігментів використовують як сирий, так і сухий матеріал.

## Хід роботи

**Дослід 1. Одержання витяжки пігментів зеленого листка.** Свіжі або висушені листки подрібнити ножицями, викинути крупні жилки і черешки, помістити в ступку, додати на кінчику ножа  $\text{CaCO}_3$  (для нейтралізації кислот кліткового соку) і трішечки чистого кварцового піску. Ретельно розтерти, доливаючи потрошку етиловий спирт, змазати носик ступки із зовнішньої сторони вазеліном і змити одержаний темно-зелений розчин по паличці у лійку з фільтром. Прилити в ступку невелику кількість спирту, розтерти і злити на

той же фільтр. Повторити цю операцію декілька разів до повного вилучення пігментів.

В іншій ступці розтерти листки з водою і профільтрувати. Розглянувши витяжки на світло.

Записати спостереження, визначити колір пігментів у воді і в спирті. Зробити висновки про розчинність пластидних пігментів у воді і органічному розчиннику.

**Дослід 2. Розділення пігментів по Краусу.** Метод Крауса заснований на різній розчинності пігментів у спирті і бензині. Хлорофіл, що має довгий вуглеводневий “хвіст” і каротин, що є вуглеводом, мають велику спорідненість до неполярного розчинника, тоді як ксантофіл (лютеїн), що є двохосновним спиртом, майже не розчинний у бензині.

Налити у пробірку 2-3 мл спиртової витяжки пігментів зеленого листка, додати дещо більший об'єм бензину і 2-3 краплини води (щоб спирт не змішувався з бензином). Закрити пробірку, декілька разів сильно стряхнути і дати відстоятись. Якщо розподіл пігментів проходить недостатньо чітко (обидва шари забарвлені), то необхідно долити ще бензину і продовжити струшувати. Помутніння нижнього шару (від надлишку води) можна усунути додаючи трохи спирту. Відмітити забарвлення нижнього спиртового шару і верхнього бензинового (зробити малюнок).

Зробити висновки про різну розчинність пігментів у спирті і бензині.

**Дослід 3. Омилення хлорофілу лугом.** При додаванні лугу протікає реакція омилення; відщеплюються спирти – метанол і фітол, а двохосновна кислота хлорофілін утворює сіль.

Солі хлорофілів мають зелене забарвлення, але відрізняються від хлорофілу нерозчинністю в бензині.

До 2-3мл спиртової витяжки пігментів додати 4-5 крапель 20% розчину лугу і стряхнути. Долити у пробірку рівний об'єм бензину, сильно стряхнути і дати відстоятись.

Відмітити забарвлення нижнього спиртового і верхнього бензинового шарів (замалювати). Вказати які речовини розчинені у спирті і які в бензині, маючи на увазі, що жовті пігменти з лугом не реагують. Записати реакцію омилення хлорофілу.

**Дослід 4. Флуоресценція хлорофілу.** Флуоресценція представляє собою свічення речовин при поглинанні ними світла. Флуоресценція хлорофілу, що не є фотосинтетично утилізаційною формою енергії, є ознакою його фотохімічної активності.

В темноті молекула хлорофілу знаходиться в основному стані з найбільш низьким енергетичним рівнем валентних електронів. При поглинанні кванту

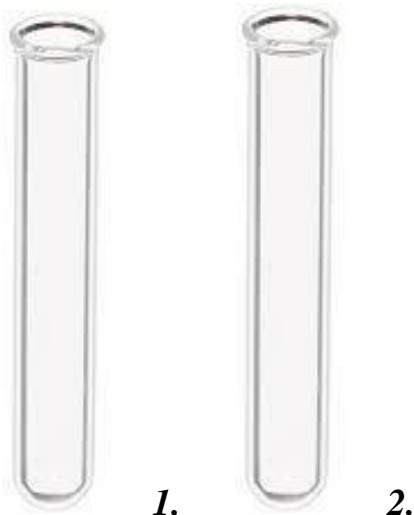


світла один із електронів молекули хлорофілу переходить на більш високий енергетичний рівень, в результаті чого виникає електронно-збуджений стан молекул. При поверненні із збудженого стану в основне енергія електронів може витратитися на: 1) фотохімічну роботу; 2) збудження сусідніх молекул хлорофілу; 3) втрати у вигляді тепла; 4) флуоресцентне випромінювання. Незалежно від довжини хвилі збуджуючого світла спектр флуоресценції хлорофілу *a* має максимум при 670 нм. Хлорофіл сильно флуоресціює у розчинах і слабо – в листках, що пояснюється щільною упаковкою молекул у тилакоїдах і використанням поглиненої енергії в фотохімічних процесах.

Витяжку пігментів у конічній колбі або пробірці розмістити на темному фоні біля настільної лампи. Розглядати витяжку з того боку, звідки падає світло.

### Результати та висновки

Дослід 1. Зафарбуйте отриманий колір пігментів у воді та спирті.



1. \_\_\_\_\_
2. \_\_\_\_\_

Поясніть розчинність пластидних пігментів у воді і органічному розчиннику \_\_\_\_\_

---

---

---

---

---

---

---

---

**Дослід 2.** Зафарбуйте отриманий розподіл пігментів у бензині.



Зробіть висновок про різну розчинність пігментів у спирті і бензині \_\_\_\_\_

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

**Дослід 3.** Відмітити забарвлення нижнього спиртового і верхнього бензинового шарів (замалювати). Вказати які речовини розчинені у спирті і які в бензині, маючи на увазі, що жовті пігменти з лугом не реагують.



Запишіть реакцію омилення хлорофілу \_\_\_\_\_

---

---

---

Зазначте які речовини розчинені у спирті і які в бензині \_\_\_\_\_

---

---

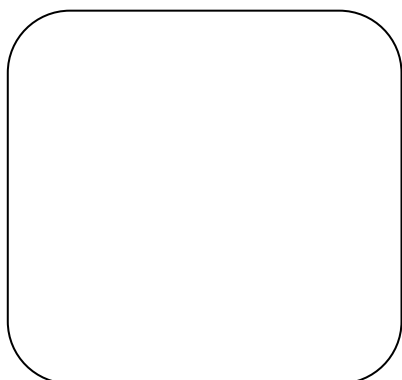
---

---

---

---

**Дослід 4.** Зробіть та прикріпіть фото флуоресценції хлорофілу запишіть висновки стосовно причини флуоресценції.



Висновки \_\_\_\_\_

---

---

---

---

---

---



### Контрольні запитання та завдання

1. Що таке фотосинтез та його значення в житті рослин?
2. У чому полягають особливості вуглецевого живлення рослин?
3. Яке значення має листок у процесі фотосинтезу?
4. Дати характеристику хлоропластів. Які Вам відомі фотосинтетичні пігменти?
5. Фотодихання та його значення в житті рослин.
6. Що таке флуоресценція хлорофілу?
7. Кінцеві продукти темної стадії фотосинтезу.
8. Міжклітинне паремхімне транспортування.
9. Хімічний склад хлорофілу.
10. Значення каротиноїдів у процесі фотосинтезу.
11. Екологія фотосинтезу.
12. Фотосинтез та біопродуктивність.

### Глосарій (дайте визначення поняттям)

*Хлорофіл* – \_\_\_\_\_

*Фотосинтез* – \_\_\_\_\_

*Фотодихання* – \_\_\_\_\_

*Паренхіма* – \_\_\_\_\_

*Каротиноїди* – \_\_\_\_\_

*Флуоресценція* – \_\_\_\_\_



*Розподіл пігментів за Краусом, омилення хлорофілу*



*Extraction and Fluorescence of Chlorophyll*



#### Лабораторна робота 4

## ВИЗНАЧЕННЯ СИСНОЇ СИЛИ (ВОДНОГО ПОТЕНЦІАЛУ) ТКАНИН РОСЛИН ЗА ЗМІНОЮ ЇХ РОЗМІРІВ (МЕТОД УРШПРУНГА)

**Мета роботи:** визначити сисну силу, тургорний та осмотичний тиск клітин рослинних тканин картоплі та столового буряка.

**Матеріали і обладнання:** 1) бульба картоплі та столовий буряк; 2) штатив із 5 пробірками; 3) відкалібрована бюретка на 50 мл; 4) градуйована піпетка на 5 мл; 5) пінцет; 6) скальпель; 7) ніж; 8) годинник; 9) міліметрова лінійка; 10) розчини NaCl по 10 мл з концентрацією від 0,6 до 0,1 моль/л.

### Теоретичні відомості

Сила, з якою клітина у даний момент втягує воду, називається **сисною**. Сисна сила клітини (S) залежить від її фізіологічного стану та від зовнішніх умов. У насінні, що знаходиться у стані спокою та меристематичних клітинах вона обумовлена, переважно, тиском набухання колоїдів протоплазми і пектинових речовин клітинних оболонок. У клітинах, які припинили ріст і мають велику центральну вакуолю, сисна сила у значній мірі визначається **величиною осмотичного тиску клітинного соку Р** і **тургорного тиску Т<sub>т</sub>**, що в свою чергу залежить від еластичності клітинної оболонки і вмісту води у клітині.

**Осмотичний тиск навколишнього розчину (P)** дорівнює:  $P = R \times T \times C \times i$ . Сисна сила клітини зазвичай дорівнює різниці осмотичного тиску клітинного соку і тургорного тиску:  $S_{кл.} = P - T_t$ .

Залежно від насичення клітини водою величина тургорного тиску буде змінюватися, а відповідно зміниться і сисна сила клітини. Водобмін між клітиною і навколишнім середовищем визначається співвідношенням сили, що сисної сили клітини і осмотичним тиском зовнішнього розчину. Поглинання або віддача води клітинами супроводжується зміною як їх розмірів і ваги, так і концентрації навколишнього розчину. При зануренні шматочка тканини рослин у розчин з високим осмотичним тиском вода з клітини надходить у розчин і розміри шматочка зменшуються ( $T_t = 0$ , отже,  $S = P$ ). Якщо сисна сила клітини вища, ніж P навколишнього розчину, та клітина втягує воду і шматочок тканини збільшується. У випадку рівного розподілу сили, що втягує тканина і P навколишнього розчину між виходом і надходженням води в клітину,

встановлюється рівновага, і розміри шматочка тканини не змінюються. Тому, завдання роботи зводиться до того, щоб із серії розчинів знайти такий, осмотичний тиск якого був рівний осмотичній силі клітин тканини. Знаючи, що  $S_{\text{кл.}} = P_{\text{розч.}}$ , легко знайти осмотичний тиск і розрахувати його, знаючи молярну концентрацію.

Однак сьогодні для характеристики **енергетичного рівня молекул води** (їх здатності дифундувати або випаровуватися) використовується термодинамічний показник – **водний потенціал**, який для чистої води прийнятий за нуль ( $\Psi_{\text{H}_2\text{O}} = 0$ ), а для будь-якого розчину – менше нуля. При заміні осмотичних показників ( $S_{\text{кл.}} = P_{\text{кл.соку}} - T_{\text{т}}$ ) на термодинамічні, це рівняння прийме наступний вигляд:

$$-\Psi_{\text{H}_2\text{O}_{\text{кл}}} = -\Psi_{\text{р}} + \Psi_{\text{гп}}, \text{ де}$$

$\Psi_{\text{H}_2\text{O}_{\text{кл}}}$  – водний потенціал клітини;

$\Psi_{\text{р}}$  – осмотичний потенціал клітинного соку;

$\Psi_{\text{гп}}$  – гідростатичний потенціал.

З рівняння видно, що осмотичний потенціал знижує водний потенціал клітини, а потенціал тиску підвищує його. Як правило,  $\Psi_{\text{H}_2\text{O}}$  клітини є негативним, і лише при повному насиченні клітини водою, коли  $\Psi_{\text{гп}} = \Psi_{\text{р}}$ , цей показник дорівнює нулю.

При зануренні рослинної клітини у будь-якої розчин водообмін між ними визначається співвідношенням їх водних потенціалів: вода переміщається в сторону нижчого водного потенціалу, тобто в бік більшої осмотичної сили.

Визначають осмотичну силу для того, щоб знати в яких умовах водозабезпечення знаходиться рослина. За допомогою цього показника правильно вибирають час поливу.

Даний метод заснований на підборі зовнішнього розчину такої концентрації, при зануренні в який смужка рослинної тканини не змінює довжини.

### Хід роботи

1. Приготувати 6 розчинів NaCl по 10 мл з концентрацією від 0,6 до 0,1 моль/л. Для цього необхідно взяти 1 М розчин NaCl і розбавити необхідною кількістю дистильованої води, щоб отримати відповідні концентрації (табл.). Розчини ретельно перемішати, закрити пробками, щоб попередити випаровування і залишити на лабораторному столі у порядку зниження концентрації.

Концентрація розчину NaCl (М)	На 10 мл розчину	
	1М NaCl (мл)	H <sub>2</sub> O (мл)
0,6	6	4
0,5	5	5
0,4	4	6
0,3	3	7
0,2	2	8
0,1	1	9
Вода	0	10

2. Вирізати з бульби картоплі і коренеплоду буряка (впоперек поздовжньої осі) пластинку товщиною 3–4 мм у формі прямокутника розміром 30×40 мм. За допомогою леза і лінійки розрізати підготовлену пластинку на 6 однакових смужок величиною 3×40 мм (нарізати смужки слід швидко, не допускаючи усихання). Кінці смужок зрізують на косину. Надлишки клітинного соку, що утворюються при розрізанні тканини, видалити фільтрувальним папером. Підготовлені смужки одразу занурити у відповідні розчини. Значення довжин смужок до досліду записати у таблицю.

3. Через 20 хвилин дістати смужки і повторно виміряти їх довжину. Дані після досліду занести у таблицю і розрахувати сисну силу, тургорний і осмотичний тиски.

Розраховують величину осмотичного тиску навколишнього розчину (Р) за формулою:  $P = R \times T \times C \times i$ .

Де: **P** – пошукова осмотична сила у атм.

**R** – газова постійна (0,0821 л атм/град.моль)

**T** – абсолютна температура (273°C+t°C кімнатна)

**C** – ізотонічні розчини

**i** – коефіцієнт Вант-Гофа, характеризує іонізацію розчинів і визначається за формулою  $i = 1 + a(n-1)$ , де: **a** – ступінь дисоціації; **n** – число іонів, на яке дисоціює молекула.

#### Ступінь дисоціації розчину NaCl різної концентрації

Концентрація розчину (М)	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1
Ступінь дисоціації	0,68	0,71	0,74	0,76	0,79	0,83

**Визначення сисної сили** (розраховується тільки для ізотонічної концентрації).

**Визначення осмотичного і тургорного тиску.** У розчинах меншої концентрації смужки тканини матимуть нижчі значення Р, яке буде зменшуватися обернено пропорційно довжині смужок тканини. Слід вважати, що для найкоротшої смужки  $T_T = 0$  (характерна повна відсутність тургору), тоді,

виходячи з формули  $S = P - T_T$ ,  $P_1 = S_1$ . Для інших смужок:  $P_1 \times L_1 = P_n \times L_n$ , звідки  $P_n = P_1 \times L_1 / L_n$ . Маючи всі значення  $S$  і  $P$ , можна розрахувати значення  $T_T$  для досліджених смужок тканини за формулою:  $T_T = P - S$ .

## Результати та висновки

*Запишіть* отримані значення довжин смужок до досліду у таблицю

Концентрація NaCl, моль/л	Смужки ДО досліду, мм	Смужки ПІСЛЯ досліду, мм	Осмотичний тиск, Па	Тургорний тиск, Па
<b>Картопля</b>				
0,6				
0,5				
0,4				
0,3				
0,2				
0,1				
<b>Столовий буряк</b>				
0,6				
0,5				
0,4				
0,3				
0,2				
0,1				

*Проведіть та запишіть* розрахунки осмотичного і тургорного тиску \_\_\_\_\_

---



---



---



---



---



---



---



---



---



---

## Зробіть висновок \_\_\_\_\_

---

---

---

---

---

---

---



### Контрольні питання та завдання

1. Рослинна клітина як осмотична система.
2. Поглинання води рослинною клітиною.
3. Яке значення матиме водний потенціал, якщо клітина буде повністю насичена водою?
4. Що станеться з хлоропластом, якщо помістити його у дистильовану воду і чому?
5. 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?

### Глосарій (дайте визначення поняттям)



*Водний потенціал* – \_\_\_\_\_

*Осмотичний тиск* – \_\_\_\_\_

*Тургорний тиск* – \_\_\_\_\_



*Визначення сисної сили рослинної тканини  
(за методом Шардакова)*



*Визначення осмотичного потенціалу  
клітинного соку плазмолітичним методом*





## Лабораторна робота 5

# ВИДІЛЕННЯ РОСЛИННИХ ПІГМЕНТІВ ТА ВИВЧЕННЯ ЇХ ФІЗИКО-ХІМІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ

**Мета роботи:** ознайомитись з методами розділення пігментів – методом М.С.Цвета, дослідити деякі фізичні і хімічні властивості хлорофілів і супутніх їм жовтих пігментів (каротину і ксантофілу).

**Матеріали та обладнання:** хвоя різних деревних рослин, фарфорові ступки, кварцевий пісок, спирт, подрібнена крейда, смужки фільтрувального паперу, пробірки, воронки, скляні палички, бензин, дистильована вода, NaOH гранульований, пінцети, 10%-ний розчин HCl в крапельниціях, кристалічна оцтова кислота мідь, фарфорові фільтри.

## Теоретичні відомості

Важливу функцію в житті рослин виконують пігменти. Вони поглинають сонячну енергію і передають її для проходження фотосинтетичних реакцій.

Всі рослинні пігменти поділяються на 4 групи: хлорофіли, каротиноїди, фікобіліни, флавоноїди. Хлорофіли і каротиноїди містяться в хлоропластах рослин. Перші з них мають зелене забарвлення і представлені хлорофілом «а» ( $C_{56}H_{72}O_5N_4Mg$ ) і хлорофілом «b» ( $C_{55}H_{70}O_6N_4Mg$ ), другі забарвлені в жовто-оранжевий колір. Найважливішими каротиноїдами є каротини (сумарна формула  $C_{40}H_{56}$ ) і ксантофіли ( $C_{40}H_{56}O_2$ ).

## Хід роботи

### Дослід 1. Одержання спиртового розчину пігментів деревних порід.

1. Листя деревних порід в кількості 1 г дрібно нарізаємо і добре розтираємо в фарфоровій ступці з невеликою кількістю кварцового піску і 8 мл спирту. Для нейтралізації кислотності в розтерту зелену масу додаємо 0,5 г крейди.

2. Одержану спиртову витяжку фільтруємо в пробірку через сухий складчастий фільтр. Рідину із ступки зливаємо по скляній паличці, не допускаючи переносу розтертої маси на фільтр.

3. Масу, що залишилася в ступці, знову розтираємо, додавши 5 мл спирту і фільтруємо через той самий фільтр. Надлишку спирту потрібно уникати, щоб не одержати дуже розбавлений розчин пігментів.

При розгляді пігментної витяжки у відбитому світлі і ультрафіолетових променях спостерігаємо темно-червоне забарвлення розчину. Це пов'язано із здатністю хлорофілів *a* і *b* до флуоресценції. Для вивчення явища флуоресценції спиртову витяжку пігментів поміщаємо в темний папір біля джерела світла і розглядаємо її. Витяжка пігментів стане темно-червоного кольору. Це зв'язано із здатністю хлорофілів до флуоресценції, тобто до випромінювання світлових хвиль.

## **Дослід 2. Розділення пігментів спиртової витяжки методом М.С.Цвета**

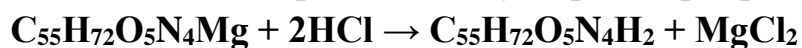
Метод М.С.Цвета ґрунтується на різній здатності пігментів адсорбуватись (поглинатись) подрібненими речовинами, наприклад: крейдою, крохмалем, клітковиною (фільтрувальним або хроматографічним папером). Суть методу може бути проілюстрована таким чином.

1. Наливаємо в пробірку 1 мл спиртової витяжки і опускаємо в неї одним кінцем вузьку смужку фільтрувального паперу. Другий кінець смужки загинаємо через край пробірки і залишаємо на 20 хв.

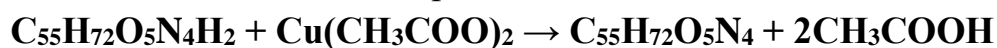
2. Всмоктуючись папером, пігменти, в залежності від здатності до адсорбування, будуть розділяться на ній смугами. Чим краще розчиняється пігмент в розчинниках і слабше адсорбується папером, тим швидше він пересувається і вище розміщується від місця знаходження витяжки. В результаті на смужці паперу можна чітко розрізнити смугу синьо-зеленого кольору (хлорофілу "a"), жовто-зеленого (хлорофілу "b"), яскраво-жовтого (ксантофіл) і жовтого (каротин).

## **Дослід 3. Вивчення хімічних властивостей рослинних пігментів**

Проводимо відщеплення магнію від хлорофілу і зворотне заміщення водню атомом металу. Атом магнію порівняно слабо утримується в порфіриновому ядрі і при дії сильних кислот легко заміщується двома протонами водню, що приводить до утворення феофітину бурого кольору.



Якщо на феофітин подіяти солями міді, цинку або ртуті, то водень в порфіриновому ядрі заміщується відповідним металом і знову відновлюватиметься зелене забарвлення.



Отже, колір хлорофілу визначається атомом металу в порфіриновому ядрі.

Дослід проводимо таким чином. Одержану спиртову витяжку розливаємо в три пробірки. Першу пробірку залишаємо для контролю. В другу і третю пробірки додаємо по 1-2 краплі 10%-ної соляної кислоти. При

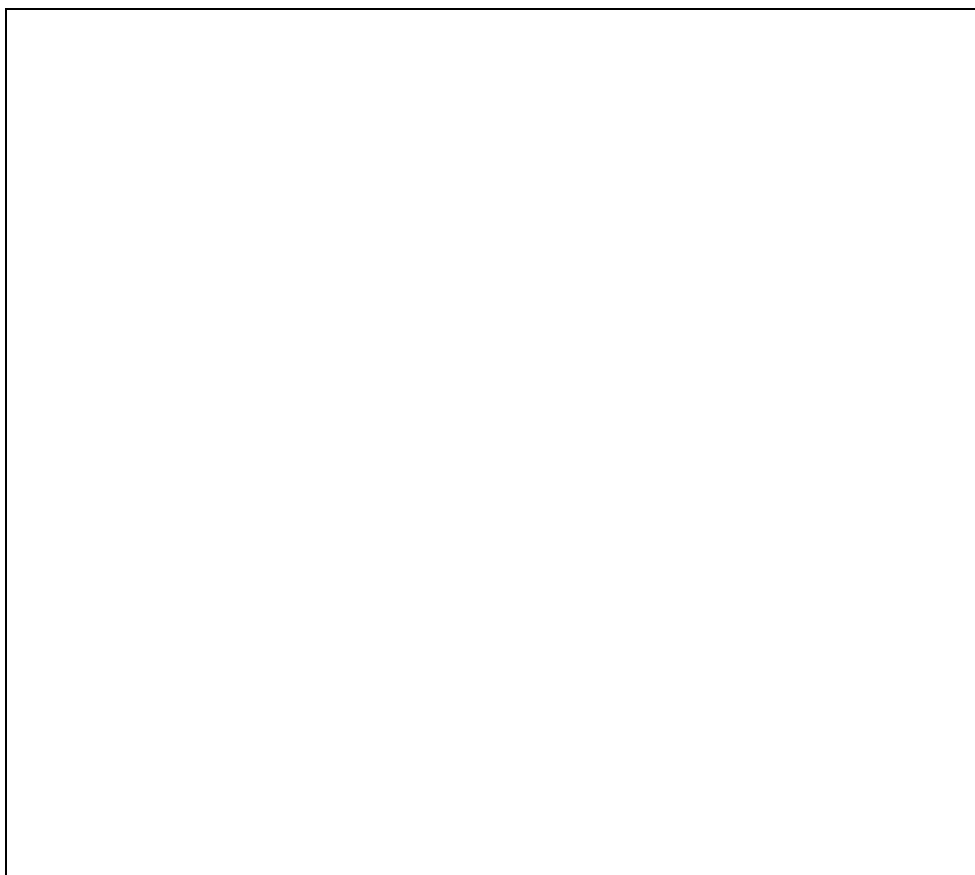
збовтуванні зелене забарвлення хлорофілу переходить в буре, характерне для феофітину.

Відтак одну пробірку з феофітином залишаємо, а в другу додаємо декілька кристаликів оцтової кислоти міді і нагріваємо до кипіння. Спостерігаємо відновлення зеленого забарвлення, внаслідок утворення хлорофілоподібного похідного міді.

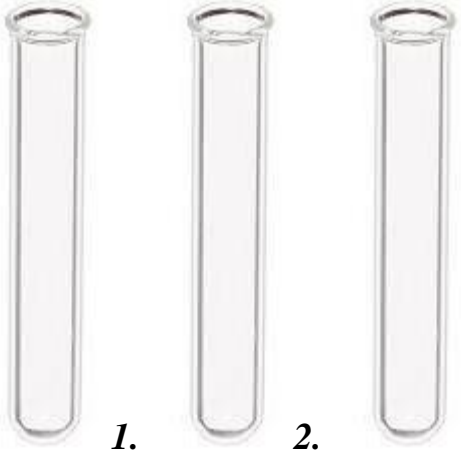
Порівнюємо забарвлення розчинів у всіх трьох пробірках. Аналізуємо одержані дані і робимо висновки про хімічні і оптичні властивості пігментів хлоропластів. Результати досліджень представляємо у вигляді рисунків.

### Результати та висновки

За допомогою кольорових олівців *замалюйте* одержану хроматограму або приклейте листок з отриманою хроматограмою (на фільтрувальному чи хроматографічному папері з розміром смужки 10×100 мм) у даний зошит та підпишіть кожен пігмент, що екстрагувався (дослід 2).



Представте результати вивчення хімічних властивостей рослинних пігментів у вигляді *рисуноків* (дослід 3).

 <p>1.      2.      3.</p>	<p>1. _____</p> <p>2. _____</p> <p>3. _____</p>
---	---

**Зробіть висновок** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_



**Контрольні питання**

1. Яку функцію в житті рослин виконують пігменти?
2. В чому суть розділення пігментів спиртової витяжки методом М.С.Цвета?
3. Якими фізико-хімічними властивостями володіють хлорофіл та ксантофіл?



*Separation of Plant Pigments by Paper Chromatography*



*Фізичні та хімічні властивості пігментів зеленого листка*



## Лабораторна робота 6

# ВИЗНАЧЕННЯ ІНТЕНСИВНОСТІ ТРАНСПІРАЦІЇ ТА ВІДНОСНОЇ ТРАНСПІРАЦІЇ ВАГОВИМ МЕТОДОМ

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

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

### Теоретичні відомості

*Транспірація* (випаровування води рослинами) вимірюється кількістю випаруваної води одиницею листової поверхні за одиницю часу. Величина транспірації залежить від багатьох факторів (температури, освітлення, водопостачання тощо), а також змінюється впродовж доби в межах  $10.300 \text{ г} \cdot \text{м}^{-2} \text{ год}^{-1}$ .

Одним із методів визначення інтенсивності транспірації є ваговий, який базується на обліку кількості випаруваної води. Цим методом можна визначити транспірацію цілої рослини або її частини.

*Відносна транспірація* – відношення інтенсивності транспірації до інтенсивності випаровування з вільної водної поверхні за тих самих умов. Цей показник характеризує здатність рослин регулювати транспірацію і становить 0,1,0,5, піднімаючись до 1, а у добре захищених від втрати води рослин дорівнює 0,01 і менше.

### Хід роботи

1. У пробірку налити воду, в яку занурити черешок листка (гілку). Попередньо зрізи поновити з метою видалення з трахей і трахеїд повітря.
2. На поверхню води в пробірці нанести 1.2 краплини рослинної олії і ретельно зважити її з точністю до третього знаку. За одну годину повторно зважити і визначити кількість випаруваної води.
3. Отримати величину інтенсивності транспірації, поділивши кількість випаруваної води в грамах на площу поверхні листової пластинки ( $\text{см}^2$ ).
4. Визначити площу поверхні листка. Для цього вирізати з паперу квадрат площею  $100 \text{ см}^2$  ( $10 \times 10 \text{ см}$ ) і зважити. Папір повинен бути рівномірним за щільністю. На цей квадрат накласти листок, який був у досліді, і гострим олівцем обвести контур його. Вирізати контур листка, встановити масу його і

вирахувати площу за пропорцією. Поверхню листка ще простіше визначити після нанесення його контуру на міліметровий папір.

5. Обчислити інтенсивність транспірації  $T$  (в  $\text{г/м}^2$  за  $\text{год}^{-1}$ ) за формулою:

$$T = \frac{10000 \cdot C}{S \cdot t}$$

де  $C$  – кількість випаруваної листком води за 1 год, г;  $t$  – тривалість дослід, год;  $S$  – площа листка,  $\text{см}^2$ .

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

$$S = \pi \times r^2.$$

7. Розрахувати  $E$  за раніше наведеною формулою інтенсивності транспірації і обчислити величину відносної транспірації ( $BT$ ):

$$BT = T/E.$$

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

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

9. Результати дослідів записати в таблиці.

## Результати та висновки

*Таблиця.* Результати визначення інтенсивності транспірації ваговим методом

Варіант дослід	Транспірація				Інтенсивність транспірації ( $T$ ), $\text{г/м}^2$ за $\text{год}^{-1}$
	маса пробірки з листком, г		випарувалось води, г	площа листка, $\text{см}^2$	
	на початку дослід	в кінці дослід			

*Таблиця. Результати визначення інтенсивності випаровування води з вільної поверхні*

Варіант дослідження	Транспірація			Інтенсивність випаровування ( $E$ ), $\text{г/м}^{-2}$ за $\text{год}^{-1}$	$T/E$
	маса чашки Петрі з водою, г		втрата води, г		
	на початку дослідження	в кінці дослідження			

**Зробіть висновок** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**Контрольні питання та завдання**



1. Що таке транспірація рослин?
2. Яке значення транспірації для рослин?
3. Що таке відносна транспірація?
4. Від яких факторів середовища залежить інтенсивність транспірації?
5. Якими методами можна обчислити площу поверхні листка?
6. Для чого в пробірку з листком наливають краплину олії?
7. Поясніть чому інтенсивність освітлення (вологість повітря, концентрація  $\text{CO}_2$  тощо) впливають на інтенсивність транспірації.

8. Який вплив транспірації на продуктивність рослин?

**Глосарій** (дайте визначення поняттям)



*Транспіраційний коефіцієнт* – \_\_\_\_\_

*Дифузія* – \_\_\_\_\_

*Кореневий тиск* – \_\_\_\_\_

*Адгезія* – \_\_\_\_\_

*Когезія* – \_\_\_\_\_



*Визначення інтенсивності транспірації рослин: лабораторна робота*



*Інтенсивність транспірації*



*Транспірація, її значення для рослин*





## Лабораторна робота 7

# ВИЯВЛЕННЯ ПЕРОКСИДАЗНОЇ АКТИВНОСТІ В КАРТОПЛЯНОМУ СОКУ

**Мета роботи:** дослідити реакцію окиснення поліфенолів у хінони та зробити висновки щодо наявності пероксидази в картопляному соку.

**Матеріали, реактиви, обладнання:** бульби картоплі; 1%-й розчин гідрохінону, 3%-й розчин пероксиду водню; скальпель, терка, марля, лійка, конічна колба місткістю 50 мл, штатив із пробірками, піпетки на 1 та 10 мл.

### Теоретичні відомості

*Оксидази* – це група аеробних ферментів здатних передавати електрони від окиснювального субстрату лише на кисень. Функцію кофермента в оксидаз виконують атоми металу (Fe, Mo, Cu).

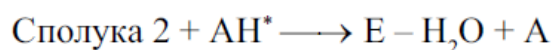
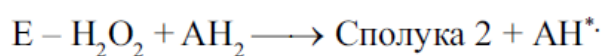
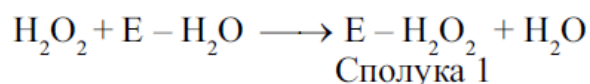
*Пероксидази* – це ферменти, які каталізують окиснення субстрату за допомогою пероксиду водню. Загальний вид реакції відповідає рівнянню:



де А і АН<sub>2</sub> – відповідно окиснений та відновлений субстрати.

Субстратами пероксидаз є поліфеноли або ароматичні сполуки, органічні гідропероксида з невеликими аліфатичними замісниками, НАД•Н (НАДФ•Н), нафтогідрохінон, індолілоцтова кислота тощо.

*Пероксидази* – залізовмісні ферменти, простетичною групою яких є гем-ферипротопорфірин ІХ. Субстрати окиснюються за одноелектронним механізмом. Перша стадія каталітичного процесу включає утворення комплексу між залізом ферменту та пероксидом водню. Таким чином, субстрат окиснюється пероксидом водню, активованим ферментом (E-H<sub>2</sub>O):



де сполука 1 – окиснена форма ферменту, залізо якого зв'язується з пероксидом (валентний стан атома заліза вищий, ніж Fe<sup>3+</sup>); сполука 2 – продукт сполуки 1, що зазнав одноелектронного відновлення за рахунок субстрату АН<sub>2</sub>; АН<sub>2</sub> – субстрат реакції; АН\* – вільнорадикальна форма окисненого субстрату; А – продукт повного окиснення субстрату.

Таким чином, пероксидаза утворює з пероксидом водню комплексну сполуку, внаслідок чого пероксид активується та набуває властивості акцептора водню.

У рослинних тканинах пероксидази широко розповсюджені, багато їх міститься в пероксисомах, знайдені вони також у клітинній стінці. Відомо більше 20 ізоформ пероксидази з різною каталітичною активністю. Доведено зміни ізоферментного складу пероксидаз та їхньої активності в онтогенезі рослин, патогенезі, в умовах стресу тощо. Активність пероксидаз та каталази перешкоджає накопиченню пероксиду водню в клітинах. Використовуючи для окиснення пероксид водню пероксидази можуть нейтралізувати продукти вторинного обміну (феноли), регулювати гормональний статус рослин завдяки окисненню індолілоцтової кислоти, забезпечують утворення етилену, беруть участь в процесах синтезу лігніну в клітинній стінці.

Визначення пероксидази в даній роботі базується на зміні забарвлення



### Хід роботи

1. Натерти на терці невелику кількість очищеної бульби картоплі.
2. Віджати крізь марлю сік та зібрати його в колбу.
3. В чотири пробірки внести по 5 мл 1%-го розчину гідрохінону.
4. У першу пробірку додати 1 мл 3%-го розчину пероксиду водню та 1 мл картопляного соку.
5. У другу – 1 мл 3%-го розчину пероксиду водню.
6. У третю – 1 мл картопляного соку.
7. У четверту додати 1 мл картопляного соку, попередньо прокип'яченого протягом хвилини та 1 мл H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

8. Спостерігати за зміною забарвлення розчинів у пробірках і занотувати результати в таблицю.

*Примітка.* Окиснений гідрохінон перетворюється в хінон, який спричинює побуріння розчину. Деяке побуріння картопляного соку без додавання гідрохінону та пероксиду водню пояснюється дією поліфенолоксидази, яка окиснює поліфеноли картоплі з участю молекулярного кисню.

9. Провести експеримент на інших рослинах (наприклад, сукулентах, плодах або листках деревних рослин) і порівняти між собою результати.

10. Зробити висновки про активність пероксидази у різних рослинних об'єктах.

*Примітка.* Якщо досліди проводяться навесні, то можна використовувати проростки картоплі.

## Результати та висновки

Таблиця. Визначення пероксидазної активності в картопляному соку

Варіант досліду	Склад суміші у пробірці			Забарвлення розчину у пробірках
	картопляний сік	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	гідрохінон	
1	+	+	+	
2	-	+	+	
3	+	-	+	
4	+	-	+	

Таблиця. Визначення пероксидазної активності в плодах/листі \_\_\_\_\_

Варіант досліду	Склад суміші у пробірці			Забарвлення розчину у пробірках
	_____ сік	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	гідрохінон	
1	+	+	+	
2	-	+	+	
3	+	-	+	
4	+	-	+	

*Зробіть висновки про активність пероксидази у різних рослинних об'єктах* \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**Контрольні запитання та завдання**



1. За рахунок яких механізмів у масивні органи (наприклад, бульби, коренеплоди) надходить кисень з повітря?
2. З якими сполуками рослинного організму реагує кисень?
3. Як можна виділити фермент пероксидазу з рослинної тканини та що для цього потрібно?
4. Як реагує рослинна пероксидаза із пероксидом водню?
5. Чи беруть участь рослинні пероксидази в процесах бродіння?
6. Поясніть бактерицидний ефект пероксиду водню.



*Визначення пероксидазної активності рослинних тканин: лабораторна робота*



## Лабораторна робота 8

# ДІАГНОСТИКА ПОШКОДЖЕННЯ РОСЛИННИХ ТКАНИН ЗА ЗМІНОЮ ПРОНИКНОСТІ МЕМБРАН КЛІТИНИ

**Мета роботи:** дослідити залежність проникності клітинних мембран від дії різних факторів.

**Матеріали, реактиви, обладнання:** *столовий буряк; гаряча вода; порцелянові чашки, порцелянові стакани місткістю 200 мл, свердла діаметром 5 мм, хлороформ, 50 %-й розчин оцтової кислоти, 40%-й розчин спирту, 1 М розчин KNO<sub>3</sub>, гаряча вода; пробірки, мірні пробірки місткістю 10 мл, лінійки, мікроскопи, предметні стекла та накривні скельця, ФЕКпробірки, термометри, фотоелектроколориметр (ФЕК).*

## Теоретичні відомості

До основних цитоплазматичних мембран рослинної клітини відносять *плазмалему* та *тонопласт*. *Плазмалема* – мембрана, що відокремлює весь живий вміст клітини (протопласт) від клітинної стінки, *тонопласт* – вакуолярна мембрана. Розрізняють також мембрани ядра, мітохондрій, пластид, субординиць апарату Гольджі, ендоплазматичного ретикулуму тощо.

Основними хімічними складовими мембран є ліпіди та білки. Згідно сучасних уявлень мембрани мають рідинно-мозаїчну будову, за якою молекули білків у біліпідному шарі утворюють щось подібне до мозаїки.

Ліпіди в мембранах представлені фосфоліпідами, гліколіпідами та стеролами. Полярні групи або молекули мають заряд і проявляють спорідненість до води (гідрофільні), тоді як неполярні з водою не змішуються (гідрофобні). Тому за складом ліпідів біологічні мембрани асиметричні.

Ненасичені жирні кислоти та полярні ліпіди забезпечують розріджений стан мембран в нормальних фізіологічних умовах. За низьких температур ліпідний шар перетворюється на тверде кристалоподібне тіло. Підвищення температури зумовлює відновлення розрідженого стану, причому ці зміни відбуваються в досить вузькому температурному інтервалі, що нагадує фазові переходи під час плавлення якогось тіла. Чим більше ненасичених жирних кислот входить до складу мембрани, тим нижчою є температура фазового переходу. Дане фізіологічне явище – *плинність мембран* – має надзвичайно важливе значення в процесах адаптації рослин до несприятливих факторів довкілля.

Білки мембран інкрустують біліпідний шар: деякі з них частково занурені в мембрану, інші пронизують всю її товщину. Гідрофобні ділянки білків взаємодіють з ліпідами, гідрофільні – контактують з протопластом. Мембранні ліпіди створюють середовище, потрібне для функціонування білків. Білки мембран забезпечують різноманітні функції, наприклад, ферментів, йонних каналів і насосів, транспортних переносників, рецепторів, а також структурних білків.

Цитоплазматичні мембрани за своїми властивостями є напівпроникними, тобто легко пропускають воду і дуже повільно розчинені речовини. *Вибіркова проникність* мембран є важливою властивістю живих непошкоджених клітин, що забезпечує збереження внутрішньоклітинного середовища (*гомеостазу*). У вакуолях клітин покривних і деяких типів паренхімних тканин часто концентруються водорозчинні пігменти – *антоціани, флавоноли, беталаніни* тощо, компартменталізація яких забезпечується тонопластом. У разі пошкодження мембран різними стресовими чинниками розмежування речовин зникає і вони вільно дифундують по клітині та за її межами.

До основних функцій, які виконують мембрани належать: *бар'єрна, транспортна, осмотична, електрична, структурна, енергетична, біосинтетична, секреторна, рецепторно-регуляторна*. Кожна органела теж має власні функції, що здійснюються в унікальному внутрішньому середовищі. Створюється це середовище завдяки вибірковій проникності та іншим специфічним властивостям мембрани, що оточують органелу та відокремлюють її від решти компартментів протопласта. Таким чином, у живій клітині завдяки наявності цитоплазматичних мембран зберігається внутрішньоклітинний *гомеостаз*. У разі їх пошкодження ця властивість втрачається і речовини, що містяться в клітинному соку, дифундують у середовище. Ступінь пошкодження корелює з кількістю виділених назовні речовин. Отже, інтенсивність виходу сполук із клітини є критерієм пошкодження мембран.

## Хід роботи



1. Вирізати з очищеного коренеплоду столового буряка десять однакових брусочків завдовжки 2 і завтовшки 0,5 см. Кілька разів промити їх у порцеляновій чашці водогінною водою, поки на поверхні бруска не припиниться виділення забарвлених пігментів із пошкоджених клітин.

2. Брусочки помістити у 5 пробірок, у які налити по 10 мл води. Одну з пробірок залишити у штативі (контроль) за кімнатної температури, а інші витримати по 10 хв у посудинах з водою, нагрітою до різних температур згідно схеми досліду (*табл. 1.*). Інші брусочки внести по одному в п'ять пробірок, які містять по 5 мл різних розчинів відповідно до схеми досліду (*табл. 2.*). За 30 хв. після початку досліду вміст всіх пробірок ретельно перемішати, брусочки буряка вийняти.

*Примітка.* Вміст пробірок періодично збовтувати. Варіант 2 (*табл. 2*) реалізують так – витримати 2 хв. у киплячій воді один із брусків буряка, потім його вийняти, охолодити й опустити в пробірку з 5 мл водогінної води кімнатної температури.

3. Виміряти оптичну густину розчинів у пробірках за допомогою ФЕК при зеленому світлофільтрі ( $\lambda=540\div 550$  нм.)

4. Результати спостережень записати у відповідні таблиці 1 та 2.

5. Побудувати графік залежності інтенсивності забарвлення рідини в пробірках від температури для даних з таблиці 1.

6. Зробити висновки щодо рівня ушкодження рослинних тканин за дії досліджуваних факторів.

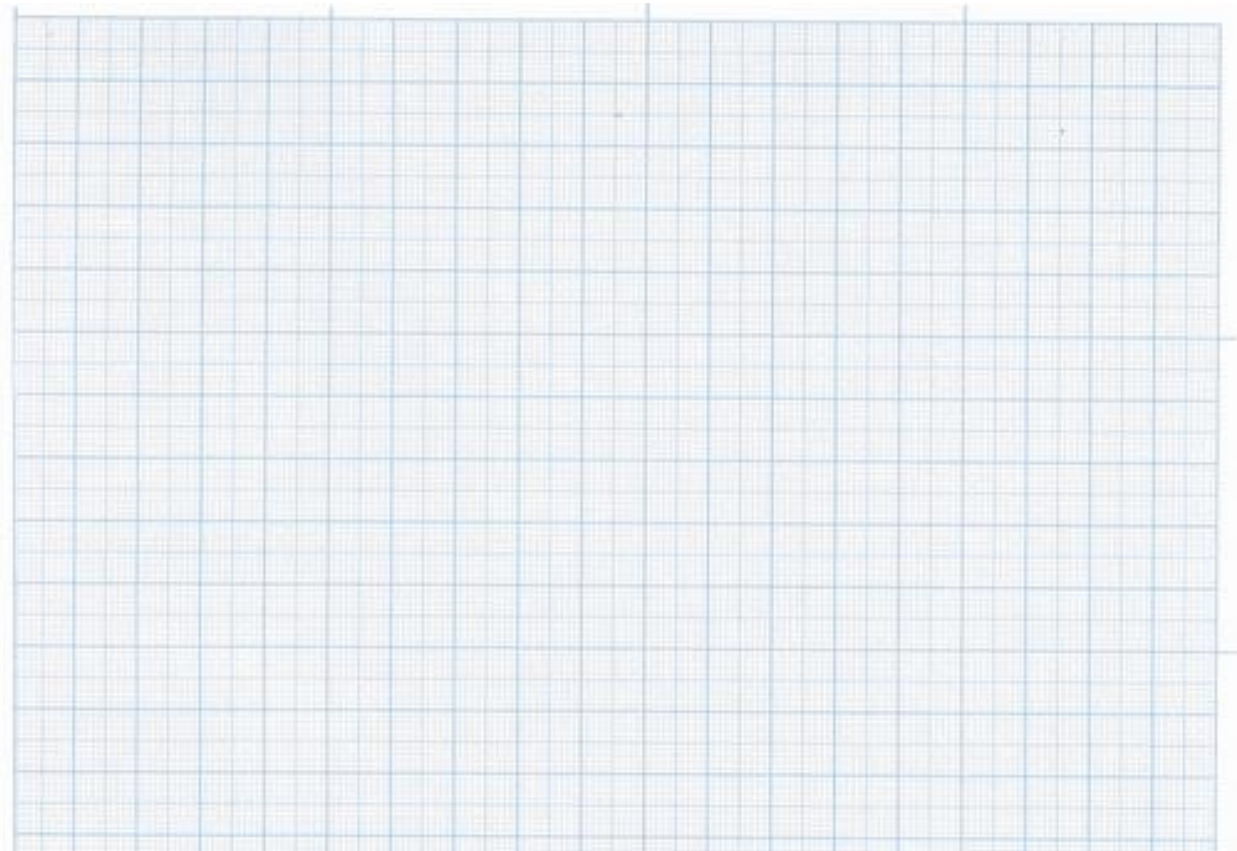
## Результати та висновки

Запишіть у таблицю 1 результати спостережень впливу температури на проникність мембран клітин для речовин клітинного соку

Схема досліду		Оптична густина розчину
Контроль		
Водяна баня	40°C	
	50°C	
	60°C	
	70°C	



Побудуйте графік залежності інтенсивності забарвлення рідини в пробірках від температури для даних з таблиці 1.



Запишіть у таблицю 2 результати визначення впливу різних факторів на проникність мембран рослинної клітини

№ пробірки	Схема досліду	Оптична густина розчинів
1	Контроль (водогінна вода) кімнатної температури	
2	Кипляча водогінна вода (див. примітку)	
3	Водогінна вода + 5 краплин хлороформу	
4	30%-й розчин оцтової кислоти	
5	40%-й розчин спирту	



**Зроби та запиши висновки** щодо рівня ушкодження рослинних тканин за дії досліджуваних факторів \_\_\_\_\_

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### **Контрольні запитання та завдання**



1. Яка модель рослинної мембрани визнана універсальною?
2. Яка роль ненасичених жирних кислот та полярних ліпідів у складі мембран?
3. Що таке плинність мембран, яке її значення в процесах адаптації рослин до дії низьких температур?
4. Чому за дії високих температур спостерігається інтенсивна дифузія антоціанів з тканин червоного буряка?
5. Вплив яких факторів може зумовити вихід вакуолярних пігментів у середовище?
6. Яке значення напівпроникності мембран у житті рослини?
7. Поясніть зміну кольору листків і пелюсток квіток жоржин, шавлії садової та інших рослин після осіннього приморозку.
8. Які функції рослинних мембран Вам відомі?
9. Що таке гомеостаз?
10. Чому інтенсивність виходу сполук із клітини може бути критерієм їх ушкодження?
11. Який із факторів зумовив найбільше пошкодження мембран і чому?
12. Які фактори довкілля впливають на проникність клітинних мембран у природних умовах?
13. Чи пропускає жива протоплазма речовини клітинного соку?
14. Чим пояснюється неоднакова швидкість забарвлення рідини у різних варіантах досліджу?
15. Чим зумовлена напівпроникність живої цитоплазми?



*Діагностика пошкодження рослинних  
тканин за зміною проникності мембран:  
лабораторна робота*



## Лабораторна робота 9

# ВИЗНАЧЕННЯ ЗАГАЛЬНОЇ, РОБОЧОЇ І НЕРОБОЧОЇ АДСОРБЦІЙНОЇ ПОВЕРХНІ КОРЕНЕВОЇ СИСТЕМИ

**Мета роботи:** використовуючи рослини, вирощені методом водної культури, визначити, як умови мінерального живлення впливають на формування загальної, активної робочої і неробочої поверхонь.

**Матеріали, реактиви, обладнання:** 25÷30-добові проростки пшениці, жита, кукурудзи (рослини з мичкуватою кореневою системою), вирощені методом водної культури на повному живильному розчині; 0,0002 н розчин метиленового синього, 1 н розчин NaOH, 1 н розчин H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, дистильована вода; склянки, місткість яких дещо більша за розміри кореневої системи дослідних рослин, гумова груша для продування повітря, скляні банки для розчинів луку, кислоти і води, скляні трубки, гумові трубки, склянки, фотоелектроколориметр (ФЕК).

## Теоретичні відомості

Речовини мінерального живлення надходять у рослину завдяки пасивному й активному поглинанню їх кореневою системою. Д.А. Сабінін та І.І. Колосов встановили, що явище *адсорбції* є першим етапом процесу поглинання та розробили метод визначення загальної поверхні корневих систем.

*Загальна адсорбуюча поверхня* коренів складається з активної робочої (поглинаючої) і неактивної поверхонь. *Активною робочою поверхнею* кореневої системи вважають ту, яка адсорбує речовини з навколишнього середовища, а потім десорбує їх усередину клітин кореня. *Неробочою поверхнею* вважають ту частину поверхні, яка поглинає речовини, але не десорбує їх углиб кореня.

Завдяки *амфотерності* біоколоїдних систем поверхня живих клітин кореня має як позитивні, так і негативні заряди. Останніх більше, тому позитивні йони адсорбуються більше ніж негативні. Процес фізичної адсорбції відбувається швидко (майже миттєво), причому значна частина адсорбованих йонів може бути витіснена з поверхні кореня йонами того самого знака заряду, що є в зовнішньому розчині. Поверхню кореня, на якій відбувається адсорбція, називають *адсорбентом*, а речовину, що адсорбується, – *адсорбатом*. Залежно від характеру взаємодії між адсорбентом і адсорбатом виділяють *фізичну* і *хімічну* адсорбцію. На поверхні живих клітин адсорбція часто зумовлена

фізичними та хімічними силами, тому різкої межі між видами адсорбції в даному разі немає. Поведінка адсорбованих молекул на поверхні адсорбента досить складна і залежить від багатьох факторів. Однак якщо адсорбат вкриває поверхню шаром завтовшки в одну молекулу (*мономолекулярна адсорбція*), то дуже швидко припиняється поглинання речовин із розчину і можна визначити розміри площі, на якій ці йони адсорбуються.

Як адсорбат зручно використовувати метиленовий синій. Відомо, що 1 мг метиленового синього вкриває мономолекулярним шаром  $1,1 \text{ м}^2$  поверхні адсорбенту. Кількість його, що адсорбується на поверхні кореневої системи з розчину, легко визначити колориметрично за зміною концентрації дослідного розчину. І. І. Колосов довів, що у разі дворазового 1,5-хвилинного занурення кореневої системи в  $0,0002 \text{ н.}$  розчин метиленового синього відбувається адсорбційне насичення неактивної й активної поверхонь. Під час третього 1,5-хвилинного занурення коренів метиленовий синій поглинається лише робочою поверхнею, яка раніше вже встигла провести всередину адсорбований метиленовий синій. Таким чином, кількість метиленового синього, поглинутого коренями під час першого та другого занурень, дає змогу обчислити площу загальної адсорбуючої поверхні, а під час третього – площу робочої поглинальної частини кореня.

## Хід роботи



1. Відібрати 25÷30 рослин і визначити об'єм їхньої кореневої системи (за допомогою циліндра). Корені виїняти з води і обережно просушити фільтрувальним папером.

2. У три циліндри налити у 10 разів більше, ніж об'єм коренів,  $0,0002 \text{ н.}$  розчин метиленового синього. Циліндри пронумерувати, об'єм налитого розчину записати в таблицю.

3. Корені рослин послідовно занурити у три циліндри з метиленовим синім на 1,5 хв. у кожний.

*Примітка.* Під час занурень кореневої системи у розчин метиленового синього стежити, щоб інші органи рослини не контактували з ним.

4. Визначити оптичну густину розчинів у циліндрах 1, 2, 3, використовуючи червоний світлофільтр ФЕКа (товщина кювети 5 мм).

*Примітка.* За стандартний використовують вихідний 0,0002 н. розчин метиленового синього, розведений у 10 разів. Перед колориметруванням дослідні розчини також розводять дистильованою водою у 10 разів.

5. Побудувати калібрувальний графік: приготувати не менше чотирьох розведень стандартних розчинів і їх колориметрувати; на міліметровому папері накреслити систему координат, відкладаючи по осі абсцис концентрацію розчинів, а по осі ординат – показники ФЕКа (оптичну густину).

6. Визначити концентрацію дослідного розчину: знайти на осі ординат калібрувального графіку відповідну точку, провести від неї горизонтальну лінію до перетинання з графіком і провести перпендикуляр на вісь абсцис.

7. Отримані результати записати у таблицю.

8. Об'єм розчину в циліндрах помножити на концентрацію розчинів і обчислити кількість метиленового синього до і після занурення коренів.

9. За різницею одержаних величин обчислити кількість фарби, адсорбованої кореневою системою.

*Примітка.* Адсорбована кількість метиленового синього із циліндрів 1 і 2 характеризує загальну адсорбуючу поверхню коренів, із циліндра 3 – активну робочу адсорбуючу поверхню.

10. Помножити кількість адсорбованого метиленового синього в міліграмах на 1,1 (1 мг метиленового синього вкриває мономолекулярним шаром 1,1 м<sup>2</sup> поверхні кореневої системи) та обчислити площу поверхні кореневої системи в квадратних метрах.

11. За різницею між загальною й активною робочою поверхнями обчислити площу недіяльної поверхні коренів.

12. Одержані дані записати у таблицю.

13. Кореневу систему після занурення в третій циліндр з метиленовим синім промити у дистильованій воді і занурити в склянку з 0,3 н. розчином CaCl<sub>2</sub>.

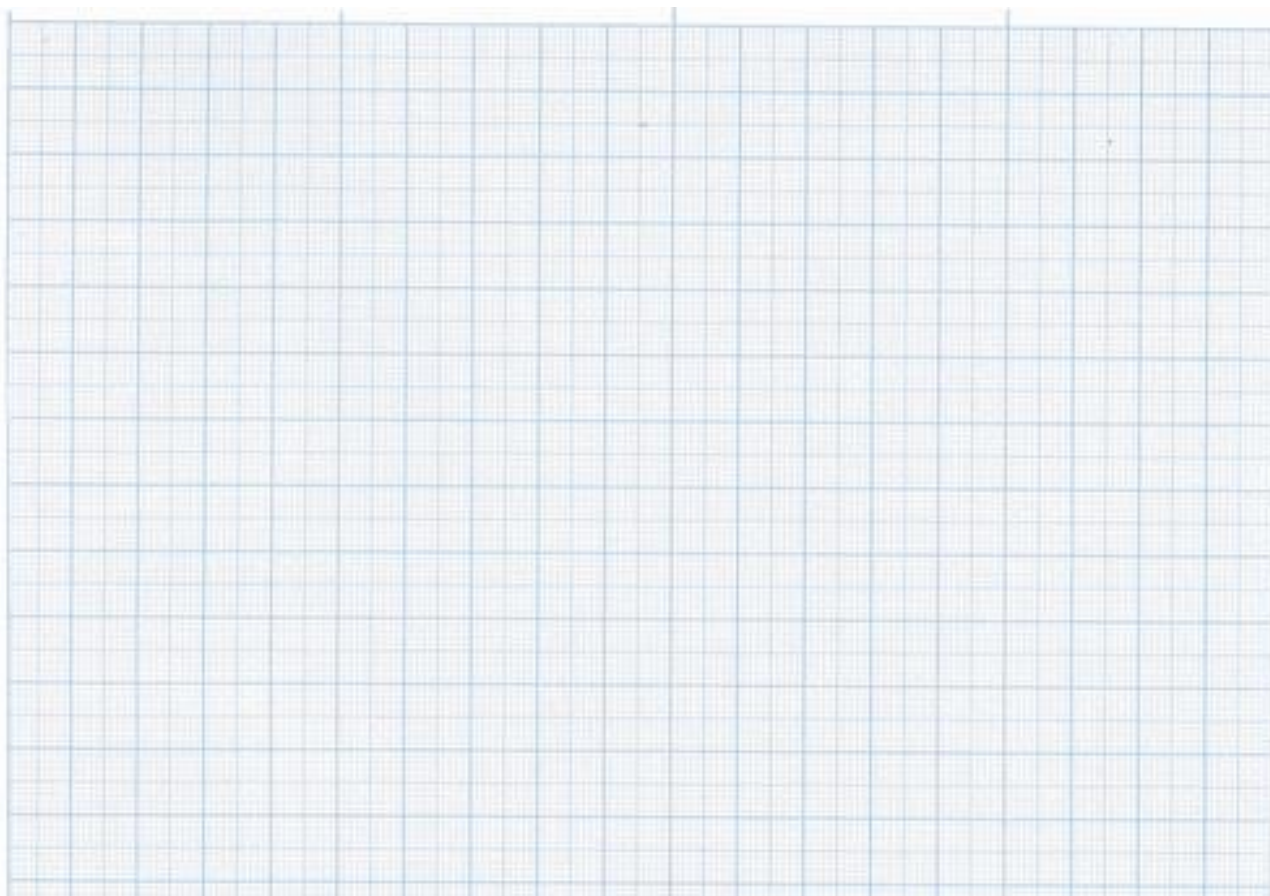
*Примітка.* Спостерігають обмінну адсорбцію, йони Ca<sup>2+</sup> обмінюються на йони метиленового синього, і розчин у циліндрі набуває синього забарвлення.

## Результати та висновки

*Запишіть* у таблицю результати визначення концентрації метиленового синього у стандартному та дослідному розчині

Об'єкт дослідження	Оптична густина розчинів у циліндрах, ум. од.			Концентрація розчинів у циліндрах (згідно калібрувального графіка)		
	1	2	3	1	2	3

*Побудуйте* калібрувальний графік: приготувати не менше чотирьох розведень стандартних розчинів і їх колориметрувати; на міліметровому папері накреслити систему координат, відкладаючи по осі абсцис концентрацію розчинів, а по осі ординат – показники ФЕКа (оптичну густина).



*Запишіть дані з визначення адсорбуючої поверхні коренів*

Об'єм розчину в циліндрах, мл	Кількість метиленового синього в розчинах, мг			Адсорбована кількість метиленового синього коренями рослин із циліндрів, мг			Площа адсорбуючої поверхні кореня, м <sup>2</sup>			
	до занурення коренів	після занурення коренів в циліндри			1	2	3	загальна	активна робоча	недіяльна
		1	2	3						

**Висновки** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_



**Контрольні запитання та завдання**

1. Схарактеризуйте механізми поглинання мінеральних речовин коренями рослин.
2. Що таке адсорбція і абсорбція?
3. Що розуміють під загальною адсорбуючою поверхнею кореневої системи?
4. Що таке робоча адсорбуюча поверхня кореневої системи?
5. На чому ґрунтується принцип методу визначення загальної і робочої поверхні коренів за Д. А. Сабініним і І. І. Колосовим?



*Вивчення початкових етапів поглинання йонів кореневою системою рослин: лабораторна робота*



## Лабораторна робота 10

# МІТОЗ В АПІКАЛЬНІЙ МЕРИСТЕМІ КОРІНЦІВ ЦИБУЛІ

**Мета роботи:** навчитися обраховувати кількість клітин на стадії інтерфази і в різних фазах клітинного циклу та визначати мітотичну активність апікальної меристеми і відносну тривалість фаз мітозу.

**Матеріали, реактиви, обладнання:** мікроскопи, предметні та накривні скельця, препарувальні голки, пінцети, скальпелі, зафіксовані корінці цибулі, ацетокармін, 45%-а оцтова кислота, розчин для обкантування скелець, фільтрувальний папір.

### Теоретичні відомості

**Мітоз** – основний тип поділу соматичних клітин, внаслідок якого утворюються дві дочірні клітини, які містять ту ж кількість хромосом (диплоїдний набір,  $2n$ ), що і материнська клітина.

Сукупність процесів, які відбуваються в соматичній клітині від одного поділу до наступного, і процесів самого поділу, який завершується утворенням двох клітин нової генерації, називають мітотичним циклом.

Розрізняють чотири періоди цього циклу: інтерфаза, яка включає три періоди та мітоз. Тривалість інтерфази становить  $9/10$  тривалості всього мітотичного циклу.

Після інтерфази настає ділення ядра клітини – мітоз або каріокінез. У процесі мітозу послідовно відбувається п'ять фаз: профаза (П), про метафаза, метафаза (М), анафаза (А) і телофаза (Т), які дуже швидко ідуть одна за одною.

Під час виконання цитогенетичних досліджень часто необхідно враховувати рівень мітотичної активності досліджуваної тканини. Щоб обчислити рівень мітотичної активності досліджуваної тканини. Щоб обчислити рівень мітотичної активності тканини, обчислюють співвідношення числа клітин, що знаходяться на різних стадіях мітозу до загального числа клітин досліджуваної тканини, тобто визначають мітотичний індекс (МІ). МІ виражається в промілях – тисячних частках цілого або у відсотках.

На підставі підрахунку кількості клітин, що знаходяться у кожній стадії мітозу, визначається відносна тривалість профази, метафази, анафази, телофази – (у відсотках) до загальної кількості клітин, які діляться.



Підрахунок клітин на різних фазах мітотичного циклу проводять у кількох полях зору. Щоб уникнути потрапляння на одне і те ж поле препарат пересувається послідовно через одне поле зору до іншого, спочатку – зверху вниз до кінця препарату, потім – через одне поле у бік знизу вгору і т.д. Дані з підрахунками клітин по полях зору заносять у таблицю, що включає всі стадії і потім сумуються.

Об'єктами дослідження фаз мітозу у навчальній лабораторії можуть бути корінці цибулі-батуна, цибулі ріпчастої, кінських бобів, скерди. Можна замість корінців використовувати інші частини рослин з інтенсивним мітотичним поділом клітин, наприклад основи молодих листочків.

Зрізаючи з пророслого насіння корінці, слід ураховувати, що перші мітози починаються у корінцях лише після досягнення ними певних розмірів. Те ж стосується й інтенсивності мітотичної активності, максимум якої настає лише на певній стадії. Тому зрізати слід корінці, що досягли 1–2 см у довжину.

Якщо перед фіксацією зрізані з рослин корінці витримати у холодильнику протягом ночі або дня, якість препаратів поліпшується; збільшиться кількість мітотичних клітин, хромосоми буде видно чіткіше (рис.).

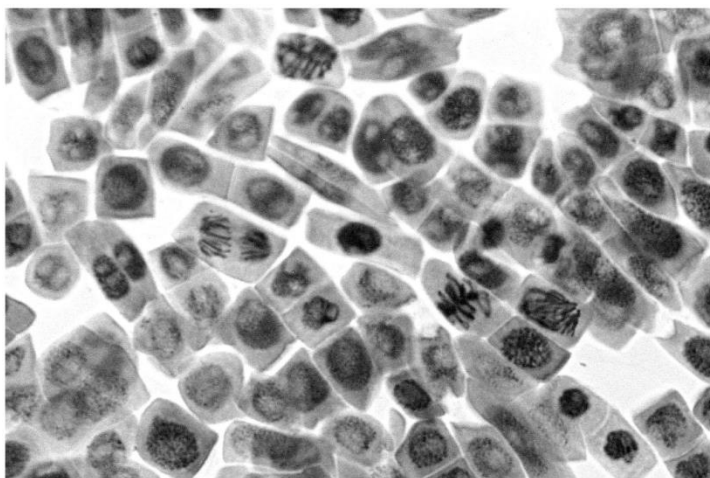


Рис. Клітини апікальної меристеми корінця цибулі ріпчастої

Насіння цибулі поміщають у чашки Петрі на змочений дистильованою водою папір і пророщують в термостаті при температурі 22°C. через 24 години фіксують корінці довжиною 1,5–2,0 см у фіксаторі Кларка (суміш етилового спирту і льодяної оцтової кислоти у співвідношенні 3:1). Після фіксації впродовж 18 год у холодильнику при температурі +8°C переносять корінці у 70% етиловий спирт і зберігають до виготовлення препаратів. Каріотип цибулі і плоїдність клітин вивчають на давлених препаратах кореневої меристеми.

Для зафарбування готують розчин ацетокорміну. У колбу наливають 55 мл дистильованої води, додають 45 мл льодяної оцтової кислоти. Розчиняють у цій суміші 4–5 г карміну. Потім цю суміш кип'ятять протягом однієї години на



водяній бані у колбі. Насичений розчин охолоджують і фільтрують у посудину, яку закривають пробкою.

### Хід роботи



1. Помістити корінці в фарфоровий тигель із ацетокарміном.

2. Нагріти на електричній плитці до кипіння (працювати під тягою).

3. Вийняти корінці з барвника, перенести у 45%-у оцтову кислоту.

4. Помістити корінці на предметне скло в краплю 45% оцтової кислоти тонким пінцетом.

5. Скальпелем або лезом бритви відокремити конус наростання, прибрати непотрібні залишки корінця.

6. Накрити препарат накривним скельцем, а потім фільтрувальним папером. Видалити надлишок оцтової кислоти.

7. Легким постукуванням тупим кінцем препарувальної голки по накривному скельцю досягти того, щоб клітини розташувалися в один шар.

8. Для подальшого аналізу і фотографування тимчасового препарату накривне скельце обкантиувати розплавленим парафіном.

9. Настроїти освітлення мікроскопа з Келером. На малому збільшенні знайти потрібну ділянку, перевести мікроскоп на більше збільшення.

10. Змінюючи поля зору, обрахувати 500 клітин зони росту, позначаючи кількість клітин, що перебувають на стадії інтерфази (І) і різноманітних фазах мітозу: профази (ІІ), метафази (М), анафази (А) і телофази (Т). У процесі роботи дані занести в таблицю.

11. Тривалість інших фаз визначити аналогічно.

### Результати та висновки

На основі даних таблиці визначити мітотичну активність тканини, обчисливши мітотичний індекс (МІ) за формулою:



## Висновки

---

---

---

---

---

---

---



### Контрольні запитання та завдання

1. Перерахуйте фази клітинного циклу. Які події відбуваються протягом клітинного циклу?
2. У яких «звіряльних точках» відбувається перевірка правильності перебігу клітинного циклу?
3. Перерахуйте послідовно періоди мітозу. Які події відбуваються під час мітозу?
4. В чому полягає біологічне значення мітозу?
5. Що таке фіксатор? Який механізм їхньої дії?
6. Чим відрізняються тимчасові давлені цитологічні препарати від постійних? У яких випадках їх використовують?
7. Опишіть основні етапи виготовлення тимчасових давлених препаратів.

### Глосарій (дайте визначення поняттям)

*Мітотичний індекс* – \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

*Апікальна меристема* – \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

*Каріокінез* – \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

*Каріотип* – \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

*Плоїдність* – \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_



Дослідження мітотичної активності у  
апикальних меристемах кореня



## Лабораторна робота 11

# ЯВИЩЕ ГУТАЦІЇ. ВПЛИВ УМОВ НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА НА ГУТАЦІЮ РОСЛИН

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

**Матеріали, реактиви, обладнання:** пророщені паростки пшениці, ячменя, жита та інших злаків, 10%-й розчин NaCl, сніг або подрібнений лід, гаряча вода, 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 гідатоди – 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.

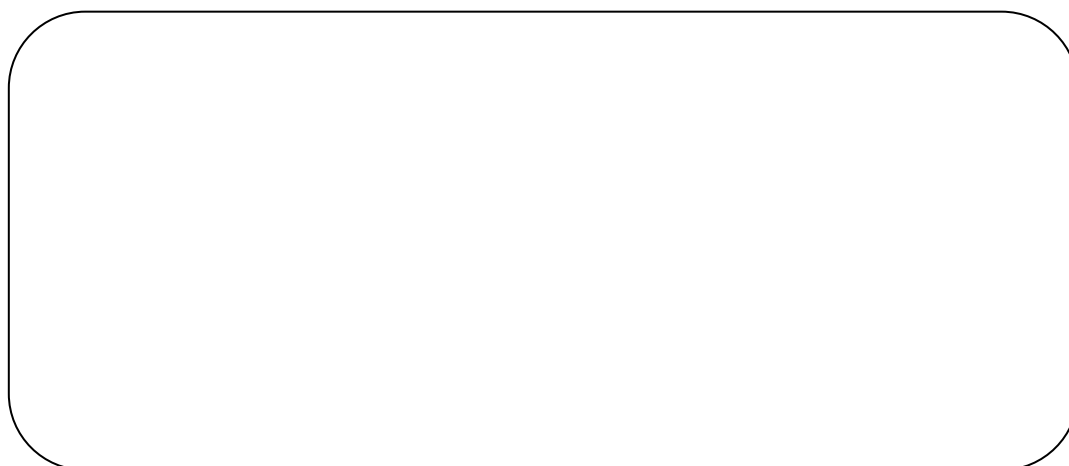
Пояснити, чому інтенсивність гутації не однакова у різних варіантах досліду, співставити варіанти 1 та 4, 1 та 2, 2 та 3. Зробити відповідні висновки. Замалювати проросток пшениці з краплиною гути.

## Результати та висновки

Результати проведених досліджень занести у таблицю:

№ варіанту, рослина	Умови досліду	Час появи краплин, хв
1	Під ковпаком, t=30°C	
2	Під ковпаком, t=30°C, атмосфера насичена гарячою парою	
3	Під ковпаком, 10%-й NaCl	
4	Під ковпаком, t=0°C, сніг або подрібнений лід	

Замалювати проросток пшениці з краплиною гути або прикріпити відповідне фото.



## Висновки

---

---

---

---

---

---

---

---



### Контрольні запитання та завдання

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?
4. 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?
5. На якій підставі при розрахунку інтенсивності транспірації можна знехтувати величиною верхньої сторони листка? Для листків якого віку похибка буде найменшою?

### Глосарій (дайте визначення поняттям)



Гути – \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Евапорація – \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Продихи – \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Інфільтрація – \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Сисна сила – \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_



Гутація



## Лабораторна робота 12

# ВИЗНАЧЕННЯ ЖАРОСТІЙКОСТІ РОСЛИН ЗА Ф.Ф. МАЦКОВИМ

**Мета роботи:** визначити рівень жаростійкості рослин різних видів.

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

### Теоретичні відомості

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

### Хід роботи



1. Нагріти водяну баню до 40 °С.
2. Занурити в неї по 5 листків кожного виду рослин і витримати протягом 30 хв., підтримуючи температуру водяної бані.
3. Взяти першу пробу, витягуючи по одному листку кожного виду рослин, і охолодити їх у чашці Петрі з холодною водою.
4. Збільшити температуру водяної бані до 50 °С і через 10 хв. витягнути ще по одному листку і охолодити їх у новій чашці Петрі з холодною водою.
5. Збільшити температуру водяної бані до 60 °С і через 10 хв. витягнути ще по одному листку, охолодити.

6. Аналогічно інкубувати листки за дії 70 °С та 80 °С. Листки охолодити.

7. Воду в чашках Петрі замінити на 0,2 н. розчин HCl і за 20 хв. оцінити ступінь пошкодження листків за величиною бурих плям.

8. Результати досліджень записати в таблицю, відмічаючи: відсутність побуріння знаком «-», незначне побуріння – «+», побуріння понад 50 % площі листка – «++», повне побуріння – «+++».

## Результати та висновки

Запишіть у таблицю результати визначення жаростійкості рослин за ступенем феофітинізації клітин мезофілу листка

Об'єкт дослідження	Ступінь пошкодження листків за температури, °С				
	40	50	60	70	80

Зробіть висновок \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

### Контрольні запитання та завдання



1. Що таке феофітинізація хлорофілу? Чим вона зумовлена?
2. Чому за дії пошкоджуючих факторів зростає ступінь феофітинізації?
3. У рослин якої екологічної групи найвищий рівень жаростійкості?

В яких рослин цей рівень найнижчий?



## Глосарій (дайте визначення поняттям)



*Епідерма* – \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

*Інфільтрація* – \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

*Кутикула* – \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

*Мембрани* – \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

*Меристема* – \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_



*Визначення жаростійкості рослин за  
Ф.Ф. Мацковим: лабораторна робота*

*Фізіологія стресостійкості рослин*



### Лабораторна робота 13

## ВИЗНАЧЕННЯ ІНТЕНСИВНОСТІ ФОТОСИНТЕЗУ ЗА КІЛЬКІСТЮ НАКОПИЧЕНОЇ СУХОЇ РЕЧОВИНИ (МЕТОД ЛИСТКОВИХ ПОЛОВИНОК)

**Мета:** вивчити продуктивність фотосинтезу різних видів деревних рослин; встановити зв'язок між інтенсивністю синтезу органічних речовин з світловим режимом. За зміною маси фотосинтезуючої частини листової пластинки визначають збільшення у ній сухої речовини за одиницю часу.

**Матеріали, реактиви, обладнання:** листки дослідних рослин (кімнатних або дикорослих, у тому числі рослин різних життєвих форм та гігоморф), технічні ваги з різновагами, ножиці, сушильна шафа, бюкси, марля, бритви.

### Теоретичні відомості

Є багато різноманітних методів визначення інтенсивності фотосинтезу: газометричний, евдіометричний, манометричний методи та метод листових половинок Ю. Сакса. Газометричний метод ґрунтується на підрахунку кількості поглинутого вуглекислого газу або виділеного кисню. Евдіометричний метод полягає у визначенні інтенсивності фотосинтезу за допомогою асиміляційної колби, розроблений Л.О. Івановим і Н.Л. Косовичем. Манометричний метод використовується для визначення інтенсивності фотосинтезу в природних умовах за допомогою польового приладу (ПСФ) за Х.М. Починком.

В умовах навчально-польової практики доступним методом визначення продуктивності фотосинтезу є **метод листових половинок Ю. Сакса**. Суть цього методу полягає в тому, що за зміною маси фотосинтезуючої частини листової пластинки визначають збільшення у ній сухої речовини за одиницю часу.

Визначається чиста продуктивність фотосинтезу, тобто накопичення сухої речовини за годину або добу на одиницю площі листків. Але для визначення чистої продуктивності необхідно паралельно визначати втрату сухої речовини на дихання і відтік асиміляторів.

Суть методу полягає у визначенні маси синтезованої органічної речовини рослиною за одиницю часу одиницею площі асимілюючої поверхні. Для цього

на пагоні підбирають 8-10 дослідних листків, які на початку досліду розрізають вздовж центральної жилки пополам.

Одну половинку листка (контрольну) відділяють від пагоне, а іншу з центральною жилкою залишають на пагоні (дослідна). Для запобігання відтоку асимілятів пагони кільцюють. Через певний час дослідні половинки відділяють від пагону і відрізають центральну жилку. Після завершення досліду визначають площі дослідних і контрольних половинок, висушують і визначають абсолютно суху масу. На основі отриманих даних розраховують продуктивність фотосинтезу.

### Хід роботи

Для досліду вибирають рослини з великими листками симетричної будови, для аналізу беруть два непошкоджених супротивних листки. Одну половину зрізають, а другу, з центральною жилкою, залишають на рослині. Відрізану половинку кладуть у кристалізатор з водою на 30 хв. до повного насичення листка (з метою нівелювання водного дефіциту). Потім з цієї пластинки свердлом вирізають кілька висічок (8-10-12), залежно від діаметра свердла.

Висічки поміщають у заздалегідь зважені і пронумеровані металічні бюкси. Бюкси ставлять на 2 год в термостат для висушування висічок при температурі 70°C. Через 2 години бюкси охолоджують, зважують разом з висічками і знову ставлять у термостат на 30 хв. Так бюкси висушують до сталої ваги.

Розділивши масу висічок на їх площу одержуємо кількість сухої речовини на одиницю площі листка.

Через 4-6 годин відрізаємо другу половинку і здійснюємо ті самі операції, що й з першою. Збільшення маси в тих половинках листків, які залишались на світлі, свідчить про продуктивність фотосинтезу. Але цей підрахунок не враховує витрату сухої речовини, яка за час досліду була використана на дихання і відтік. А тому у супротивного листка вирізуємо половинку пластинки, а на другу надіваємо ковпачок з чорного паперу. З першою і другою половинками цього листка проводять ті самі досліди, що й з попередніми. При цьому визначаємо уже не приріст сухої речовини, а втрату її на одиницю площі за одиницю часу (1 годину). Цю величину додають до одержаної попередньо, а точніше кількість втрати сухої речовини і відтоку додаємо до кількості приросту і одержуємо точніші дані щодо продуктивності фотосинтезу.

1. Підбираємо по 8-10 листків на пагонах декількох видів деревних порід.

2. Розрізаємо відібрані листки вздовж центральної жилки і відділяємо контрольні половинки від пагону та загортаємо їх у вологу марлю.

3. Кільцюємо пагони для запобігання відтоку асимілятів.

4. Через 2-3 год відділяємо від пагонів дослідні половинки листків і загортаємо їх вологу марлю.

5. Визначаємо площу контрольних і дослідних половинок (рис.).

6. Подрібнюємо половинки листків, поміщаємо їх в бюкси, висушуємо до абсолютно сухої маси і знаходимо вагу.

7. Результати дослідження заносимо в табл.

8. Продуктивність фотосинтезу розраховуємо за формулою:

$$Пф=(Ад-Ак)/t$$

де: Ад – кількість сухої речовини на 1 см<sup>2</sup> дослідних половинок, г;

Ак – кількість сухої речовини на 1 см<sup>2</sup> контрольних половинок, г.

t – тривалість досліду, год.



Рис. Приклади обчислення площі листової пластинки

### ***Метод висічок.***

У попередньо зважених листків (у стані повного насичення водою) спеціальним пробійником роблять певну кількість висічок. Знаючи площу кожної висічки (через діаметр пробійника) та їх кількість, із кожної проби можна визначити масу 1 см<sup>2</sup> листка. А поділивши загальну масу проби на одержану питому, визначають площу листової поверхні кожної проби.

### ***Метод заміру параметрів листя.***

Цей метод найбільш поширений для визначення площі листка злаків і полягає в замірі довжини листка та найбільшої ширини. Добуток цих величин

множать на поправочний коефіцієнт і отримують площу листкової пластинки. Поправочні коефіцієнти складають: для пшениці – 0,67, для ячменю – 0,68, для кукурудзи – 0,85, для проса – 0,72.

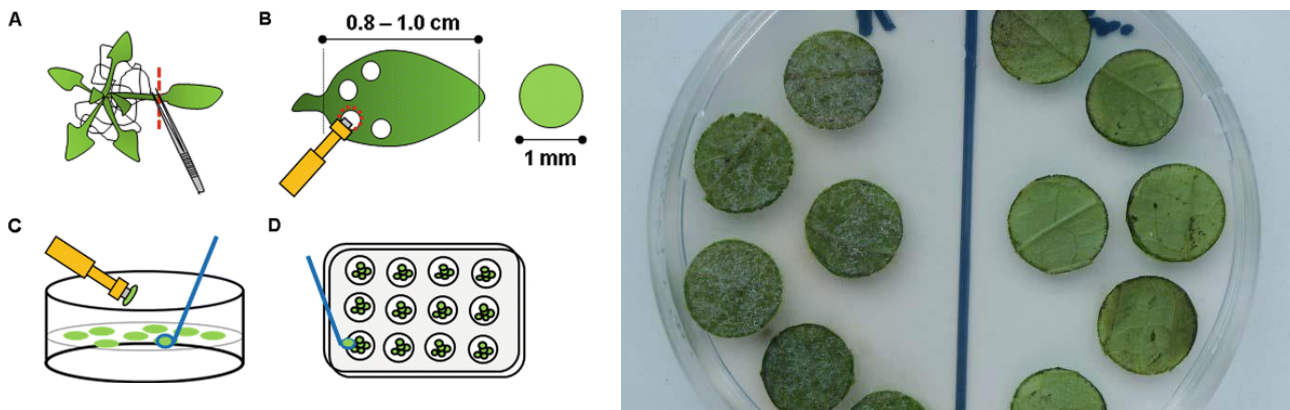


Рис. Обчислення площі листкової пластинки

## Результати та висновки

Таблиця. Продуктивність фотосинтезу різних видів деревних рослин

Вид рослини	Варіант дослідю	Тривалість дослідю, год.	Площа листків, см <sup>2</sup>	Суша маса листків, г	Кількість сухої речовини на 1 см <sup>2</sup> площі, г	Продуктивність фотосинтезу, г/см <sup>2</sup> год.
	На початку дослідю					
	По закінченню дослідю					
	На початку дослідю					
	По закінченню дослідю					

**Висновки** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_



**Контрольні запитання та завдання**

1. Фотосинтез: визначення, біологічне значення, фази.
2. Загальне рівняння фотосинтезу.
3. Умови перебігу світлової та темної фази фотосинтезу.
4. Анатомія листка як органу фотосинтезу.
5. Обґрунтуйте залежність інтенсивності фотосинтезу від зовнішніх факторів.
6. Поясніть поняття «нето-асиміляція».
7. Обґрунтуйте залежність продуктивності фотосинтезу рослинного організму від морфометричних показників та особливостей анатомічної будови.

**Глосарій (дайте визначення поняттям)**



*Чиста продуктивність фотосинтезу* – \_\_\_\_\_

*Асиміляція* – \_\_\_\_\_

*Фотофосфорилування* – \_\_\_\_\_

*Флуоресценція* – \_\_\_\_\_

*Цитохроми* – \_\_\_\_\_



*The Floating Leaf Disk Experiment for  
Investigating Photosynthesis*

## **БІБЛІОГРАФІЯ**

1. Войцехівська О.В., Капустян А.В., Косик О.І. Фізіологія рослин: практикум / За заг.ред. Т.В. Паршикової. Луцьк: Терен, 2010. 420 с.
2. Гринченко Т.О., Грицайчук В.В., Потапенко Г.С., Никитюк Л.В. Задачі та вправи з фізіології рослин та основ сільського господарства: Навчальний посібник. Харків: ХНПУ, 2017. 60 с.
3. Злобін Ю. Курс фізіології і біохімії рослин. Суми: Університетська книга, 2019. 464 с.
4. Кобилецька М.С., Терек О.І. Біохімія рослин. Львів, 2017. 270 с.
5. Лісовська Т.П. Цитогенетичні основи розвитку організмів: методичні рекомендації до виконання практичних робіт для студентів – магістрантів біологічного факультету денної і заочної форми навчання. Луцьк: Друк ПП Іванюк В.П., 2017. 57 с.
6. Мусієнко М. М. Фізіологія рослин. К.: Вища школа 2007. 503с/
7. Перерва В.В. (уклад.) Лабораторний практикум з фізіології та захисту рослин для студентів спеціальності 101 Екологія. Частина перша. Кривий Ріг: КДПУ, 2021. 50 с.
8. Скляр В.Г. Екологічна фізіологія рослин: підручник / за аг. ред. Ю.А. Злобін. Суми: Університетська книга, 2018. 271 с.
9. Jain V. K. Fundamentals of Plant Physiology. Chand Publishing, 2017. 736 p.
10. Pallardy Stephen G. Physyology of wood plants. – 3<sup>rd</sup> ed. Library of Cataloging-in-Publication Data. 2008. 454 p.
11. Pessaraki M. Handbook of Plant and Crop Physiology. New York: Marcel Dekker, Inc., 2001. 974 p.
12. Srivastava H.S., Shankar N. Plant Physiology and Biochemistry. Rastogi Publications, 2005. 500 p.

