

Департамент освіти і науки Тернопільської облдержадміністрації
Тернопільський національний педагогічний університет
імені Володимира Гнатюка
Тернопільське обласне комунальне територіальне відділення
Малої академії наук України

ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН

Лабораторний практикум

Тернопіль 2023

Рецензенти:

Дробик Надія Михайлівна, доктор біологічних наук, професор, декан хіміко-біологічного факультету Тернопільського національного педагогічного університету ім. Володимира Гнатюка

Брошак Іван Станіславович, кандидат сільськогосподарських наук, доцент, заслужений працівник сільського господарства України, директор Тернопільської філії державної установи «Інститут охорони ґрунтів України»

Кернична Іванна Зіновіївна, кандидат біологічних наук, доцент кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою Тернопільського національного медичного університету ім. Івана Горбачевського

Фізіологія рослин. Лабораторний практикум : навчальний посібник
/ Упорядники: Пида С.В., Дідушицька Б.С. Тернопіль, 2023. 96 с.

У лабораторному практикумі подано теоретичний матеріал та методику виконання робіт з дослідження функцій рослин, які охоплюють основні розділи курсу «Фізіологія рослин» і є доступними для проведення у лабораторних умовах. Видання дає можливість підвищити рівень не тільки теоретичної підготовки, а й сформувати вміння досліджувати основні функції рослин залежно від умов навколишнього середовища, проводити довготривалі і короткотривалі дослідження.

Видання адресовано слухачам Тернопільського обласного комунального територіального відділення Малої академії наук України, вчителям, викладачам та науковим керівникам, які працюють з обдарованою молоддю.

© Тернопільське обласне
комунальне територіальне
відділення Малої академії наук
України

© Пида С.В., Дідушицька Б.С.,
упорядкування, 2023

ЗМІСТ

ВСТУП.....	6
ТЕМА. ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИННОЇ КЛІТИНИ.....	7
<i>Робота 1. Якісне визначення простих і складних вуглеводів у рослинних тканинах.....</i>	<i>7</i>
<i>Робота 2. Виявлення жирів у рослинах методом якісних реакцій...</i>	<i>9</i>
<i>Робота 3. Добування рослинного білка і вивчення його властивостей.....</i>	<i>11</i>
<i>Робота 4. Виявлення активності дегідрогеназ у насінні гороху.....</i>	<i>13</i>
<i>Робота 5. Спостереження за гідролізом крохмалю ензимом амілазою.....</i>	<i>14</i>
<i>Робота 6. Явище плазмолізу і деплазмолізу, форми плазмолізу...</i>	<i>15</i>
<i>Робота 7. Ковпачковий плазмоліз.....</i>	<i>17</i>
<i>Робота 8. Визначення осмотичного тиску клітинного соку плазмолітичним методом (за де-Фрізом).....</i>	<i>17</i>
ТЕМА. ВОДНИЙ РЕЖИМ РОСЛИН.....	21
<i>Робота 9. Визначення загального вмісту води в рослинному матеріалі.....</i>	<i>21</i>
<i>Робота 10. Визначення водного дефіциту листків рослин.....</i>	<i>22</i>
<i>Робота 11. Визначення інтенсивності транспірації ваговим методом.....</i>	<i>24</i>
<i>Робота 12. Спостереження за дією кореневого тиску в кімнатних рослин.....</i>	<i>27</i>
<i>Робота 13. Спостереження за явищем гутації у рослин.....</i>	<i>30</i>
<i>Робота 14. Визначення транспірації верхнього і нижнього боків листка за допомогою хлоркобальтового паперу (за Шталем).....</i>	<i>32</i>
<i>Робота 15. Вивчення стану продихового апарату рослин інфільтраційним методом (за Молішом).....</i>	<i>33</i>
<i>Робота 16. Дослідження стану продохів за методом Молотковського-Полаччі.....</i>	<i>36</i>
ТЕМА. ФОТОСИНТЕЗ.....	38
<i>Робота 17. Способи добування витяжки пігментів хлоропластів.....</i>	<i>38</i>
<i>Робота 18. Явище флуоресценції зелених пігментів.....</i>	<i>39</i>
<i>Робота 19. Розподіл пігментів (за Г. Краусом).....</i>	<i>40</i>

<i>Робота 20.</i> Омилення хлорофілу лугом.....	41
<i>Робота 21.</i> Добування феофітину і зворотнє відновлення металоорганічного зв'язку.....	42
<i>Робота 22.</i> Визначення площі листкового апарату.....	43
<i>Робота 23.</i> Визначення питомої поверхневої щільності листків рослин.....	46
<i>Робота 24.</i> Визначення інтенсивності фотосинтезу за кількістю накопиченої сухої речовини (метод листкових половинок).....	47
<i>Робота 25.</i> Утворення крохмалю у фотосинтезуючому листку.....	49
ТЕМА. ДИХАННЯ РОСЛИН.....	51
<i>Робота 26.</i> Виявлення поглинання кисню під час дихання проростаючого насіння.....	51
<i>Робота 27.</i> Виявлення виділення CO ₂ під час дихання проростаючого насіння.....	52
ТЕМА. МІНЕРАЛЬНЕ ЖИВЛЕННЯ РОСЛИН.....	54
<i>Робота 28.</i> Виявлення нітратів у рослинах.....	54
<i>Робота 29.</i> Закладання дослідів по вивченню фізіологічної ролі елементів мінерального живлення в умовах водних культур.....	55
<i>Робота 30.</i> Визначення об'єму кореневої системи рослин (за Д. А. Сабініним і І. І. Колосовим).....	66
<i>Робота 31.</i> Вплив бактеризації насіння на нодуляційну здатність бобових культур.....	68
<i>Робота 32.</i> Антагоністичний вплив калію і кальцію на цитоплазму рослинних клітин.....	71
ТЕМА. РІСТ І РОЗВИТОК РОСЛИН.....	73
<i>Робота 33.</i> Визначення зон росту кореня і стебла нанесенням позначок.....	73
<i>Робота 34.</i> Спостереження за проростанням пилку і ростом пилкової трубки.....	75
<i>Робота 35.</i> Визначення зони геотропічного згину кореня і стебла.....	78
<i>Робота 36.</i> Виявлення явища фототропізму у рослин	79
<i>Робота 37.</i> Виявлення явища гідротропізму у рослин	81
<i>Робота 38.</i> Вплив гетероауксину на ріст коренів	81

ТЕМА. ФІЗІОЛОГІЯ ВИДІЛЕННЯ РЕЧОВИН РОСЛИННИМ ОРГАНІЗМОМ.....	84
<i>Робота 39.</i> Дослідження алелопатичної активності водорозчинних виділень рослин.....	84
<i>Робота 40.</i> Дослідження алелопатичної активності летких виділень кімнатних рослин.....	87
ТЕМА. СТІЙКІСТЬ РОСЛИН.....	89
<i>Робота 41.</i> Виявлення захисної дії цукрів на цитоплазму клітин за низьких температурах.....	89
<i>Робота 42.</i> Визначення жаростійкості рослин (за Ф. П. Мацковим).....	91
<i>Робота 43.</i> Вплив концентрації розчину солей на проростання насіння.....	92
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....	95

ВСТУП

Фізіологія рослин – наука, що вивчає закономірності фізіолого-біохімічних процесів та функцій рослинного організму і їх взаємозв'язок з умовами навколишнього середовища.

Метою курсу є формування системи знань про функції та процеси, що відбуваються в організмі рослин упродовж онтогенезу, їх зв'язку між собою та умовами середовища, а також їхнє становлення в процесі історичного та індивідуального розвитку; молекулярні механізми основних фізіологічних функцій рослини, зокрема, процесів водообміну, фотосинтезу, дихання, мінерального живлення, росту, розвитку, виділення речовин, стійкості до несприятливих умов природного навколишнього середовища, хімічний та молекулярний склад, структуру і функції рослинної клітини.

Основне завдання лабораторного практикуму – покращити якість проведення практичних занять з фізіології рослин та поглибити теоретичні знання з сучасної фізіології рослин.

Виконання практичних робіт з фізіології рослин має за мету:

- поглибити і закріпити на практиці набуті слухачами знання під час теоретичного курсу;
- навчити слухачів оволодіти навиками експериментальної роботи, зокрема закладанням довготривалих та короткочасних дослідів, здійснення фізіолого-біохімічних аналізів у лабораторних умовах;
- прищепити слухачам навички і зацікавлення до проведення науково-дослідної роботи;
- сформувати вміння аналізувати інформацію, виявляти проблеми і формулювати завдання, збирати дані, пояснювати отримані результати, узагальнювати їх, робити висновки та пропонувати рішення.

Матеріалом для виконання практичних робіт слугують рослини, що вирощуються у лабораторних, вегетаційних або польових умовах.

У розробці кожного заняття подається тема, мета, перелік необхідних для виконання роботи матеріалів та обладнання, включено основні відомості, методику закладання дослідів. Кожна лабораторна робота практикуму має дослідницький характер і являє собою закінчений експеримент. Матеріал, який виноситься на практичні заняття з «Фізіології рослин» відповідає навчальній програмі «Біологія» для слухачів обласного відділення МАН України.

ТЕМА. ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИННОЇ КЛІТИНИ

Робота 1. Якісне визначення простих і складних вуглеводів у рослинних тканинах

Мета: навчитись добувати водні витяжки з рослинних тканин, виявляти за допомогою якісних реакцій розчинні вуглеводи, їх відновні властивості, крохмаль узернівках злаків та бульбах картоплі.

Обладнання, матеріали, реактиви: мікроскопи, предметні стекла і накривні скельця; водяна баня; спиртівки; ланцети; пробірки; тримачі пробірок; препарувальні голки; мірні циліндри місткістю 100 мл; лійки; піпетки місткістю 1, 2, 5 мл; скляні палички; картопля, морква, капуста, цибуля; реактив Фелінга; розчин йоду в йодиді калію; сахароза і глюкоза; кристали α -нафтолу; концентрована H_2SO_4 , $NaOH$.

Основні відомості. Найпоширенішими органічними речовинами у природі є вуглеводи. В організмі рослини приблизно 85 % сухої маси припадає на вуглеводи. Загальна формула всіх вуглеводів – $C_n(H_2O)_n$. Отже, вуглеводи побудовані з атомів карбону, гідрогену й кисню, причому гідроген і кисень входять до складу молекул цих речовин у таких самих співвідношеннях, як і в молекулі води. Основним процесом, під час якого відбувається синтез вуглеводів, є фотосинтез.

Вуглеводи поділяють на дві групи: прості й складні. Серед найбільш поширених простих вуглеводів у рослинах є гексози (глюкоза, фруктоза) і пентози (рибоза і дезоксирибоза, що є компонентами нуклеїнових кислот) та ін. Прості вуглеводи, або моносахариди, не гідролізуються. Складні вуглеводи являють собою полімери, в яких роль мономерів виконують прості вуглеводи. Складні вуглеводи є ди-, три- і полісахариди (буряковий або тростинний цукор, мальтоза, рафіноза, крохмаль, клітковина та ін.). Складні вуглеводи під час гідролізу розщеплюються на прості. Вуглеводи виконують важливу функцію у рослинному організмі. Вони використовуються на утворення нових частин тіла рослин (будівельна функція) і для відкладання про запас. При проростанні насіння або в холодний період року відкладені про запас вуглеводи перетворюються на рухомі форми і використовуються на потреби організму, насамперед як енергетичний матеріал (енергетична функція).

Залежно від характеру процесів обміну в рослині проходять різноманітні перетворення вуглеводів, які особливо інтенсивно відбуваються у фотосинтетичному циклі та під час дихання.

У цій роботі слухачі ознайомлюються з найпростішими методами якісного визначення простих і складних вуглеводів у рослинах, які можна успішно застосовувати і в обласному відділенні МАН України.

Проведення роботи

1. Виявлення крохмалю. Для визначення крохмалю зручно використовувати зернівки злакових і бульби картоплі. Під мікроскопом розглядають незабарвлений крохмаль або забарвлений розчином йоду в йодиді калію (розчин Люголя). Характерною властивістю крохмалю є здатність його забарвлюватися в синій колір при додаванні розчину йоду в йодиді калію. До краплини води на предметному склі доторкаються шматочком бульби картоплі, накривають покривним і мікроскопують. Спостерігають крохмальні зерна. З одного боку покривного скла капають 1-2 краплі розчину Люголя, а з протилежного – відтягують його стрічкою фільтрувального паперу і спостерігають в окуляр мікроскопа за зміною забарвлення крохмальних зерен.

2. Виявлення розчинних вуглеводів. Щоб виявити наявність розчинних вуглеводів, з рослини виготовляють водну витяжку. З цією метою рослину подрібнюють, кілька шматочків кладуть у пробірку, доливають 10 мл води і кип'ятять на спиртівці протягом 2 хв.

У чисту суху пробірку наливають 5 мл витяжки, додають на кінчику скальпеля кристалики а-нафтолу і добре перемішують. По стінці пробірки піпеткою обережно доливають 1 – 2 мл концентрованої H_2SO_4 . Там, де кислота стикається з витяжкою, утворюється фіолетове кільце фурфуролу, що свідчить про наявність у витяжці розчинних цукрів.

3. Виявлення моноцукрів (глюкози, фруктози). Рослину подрібнюють, кладуть кілька шматочків у пробірку, доливають 10 мл води і кип'ятять протягом 5 хв. При цьому клітини тканин руйнуються і їхній вміст переходить у розчин. Після кип'ятіння витяжку фільтрують і розливають у дві пробірки. В першу пробірку доливають однаковий об'єм реактиву Фелінга і нагрівають на полум'ї спиртівки до кипіння. В

другу пробірку до фільтрату додають 3 – 4 краплі 20 %-го розчину HCl і кип'ятять упродовж 1 хв, щоб гідролізувати сахарозу. Кислоту у пробірці нейтралізують содою, додають реактив Фелінга і знову нагрівають до кипіння. В першій і другій пробірках спостерігають відновлення оксиду міді (II) до оксиду міді (I) в результаті окиснення гексоз. Оксид міді (I) випадає у вигляді осаду цеглянистого кольору, що вказує на наявність редуруючих цукрів у досліджуваному матеріалі без гідролізу сахарози (перша пробірка) і з проведенням гідролізу сахарози (друга пробірка). Вміст крохмалю і клітковини визначають за інтенсивністю утвореного забарвлення, а редууючих цукрів – за кількістю утвореного осаду оксиду міді (I) і оцінюють за 4-бальною системою.

Під час цієї роботи слухачі вивчають вміст різних вуглеводів у насінні та інших органах деяких злакових, бобових і олійних рослин. Результати досліджень замальовують у робочому зошиті.

Робота 2. Виявлення жирів у рослинах методом якісних реакцій

Мета: навчитися виготовляти зрізи з насіння олійних культур, виявляти жири за допомогою якісних реакцій, розглядати препарати на малом (8) та великому (40) збільшеннях мікроскопа.

Обладнання, матеріали, реактиви: мікроскопи; предметні і накривні скла; бритви; препарувальні голки; скляні палички; насіння рицини, соняшника, коноплі і олія з цього насіння; розчин барвника судан III; осмієва кислота; бромна вода; ефір; насіння кукурудзи.

Основні відомості. Ліпіди – органічні речовини, до складу яких входять жири і ліпоїди (жироподібні речовини). Ліпіди не розчиняються у воді, але розчиняються у спирті, ефірі, бензині та інших розчинниках. З водою ліпіди утворюють емульсії різної стійкості. Усі природні жири є сполуками триатомного спирту – гліцерину і високомолекулярних насичених і ненасичених жирних кислот – пальмітинової, стеаринової, олеїнової, лінолева, ліноленова та ін. Ліпіди є в кожній рослинній клітині. Як запасні речовини вони накопичуються в насінні і плодах багатьох рослин. Наприклад, у насінні рицини міститься 60 % олії, насінні соняшника – 24 – 38 %, коноплі – 30 %. Біологічна роль ліпідів різноманітна. Жири, як і вуглеводи, є речовинами, при розщепленні

яких вивільняється енергія. Крім енергетичної функції ліпіди виконують також будівельну та захисну функції. Ліпіди відіграють також дуже важливу роль в регулюванні проникнення речовин у клітину. Інтенсивне їх утворення (за рахунок вуглеводів) відбувається під час дозрівання насіння і плодів. При проростанні насіння, навпаки, енергійно розщеплюються олії (зокрема, в олійних культур). Гліцерин і жирні кислоти, які утворюються при цьому, дуже швидко використовуються на різні синтези, що відбуваються в проростку. Основним продуктом, що утворюється в результаті перетворення жирів, є цукор. Для якісного визначення жирів у рослинах використовують низку характерних якісних реакцій: забарвлення жиру суданом III, реакція з осміевою кислотою або спиртовим настоем кореня алькани; проби на акролеїн, з галоїдами тощо.

Проведення роботи

Олії найкраще виявляти в насінні рицини, соняшника, конопель та інших олійних культур. З цією метою роблять зрізи з насіння і розглядають їх під мікроскопом. Краплі олії спостерігають у вигляді блискучих кульок навіть без забарвлення препаратів. Щоб переконатись, що це насправді олія, зрізи забарвлюють 1 %-м розчином осміевої кислоти, при цьому олія на зрізах забарвлюється в чорний колір.

Реакція з суданом III. Виготовлений зріз із зародка насіння кукурудзи кладуть у краплину розчину барвника судан III на предметному склі і витримують 10 – 20 хв. Далі зріз переносять у гліцерин і розглядають під мікроскопом. Зародок кукурудзи швидко забарвлюється в яскраво-оранжевий колір, а ендосперм залишається безбарвним. Для виявлення олії проводять також пробу на омилення. Під час виконання цієї роботи слухачі виявляють, в яких частинах насіння переважно відкладаються олії про запас в однодольних і дводольних рослинах. Результати досліджень зарисовують у робочих зошитах.

Робота 3. Добування рослинного білка і вивчення його властивостей

Мета: навчитись виготовляти водну витяжку білків із насіння бобових культур та виявляти їх за допомогою якісних реакцій.

Обладнання, матеріали, реактиви: аптечні терези з різноважками; фарфорові ступки; спиртівки; штативи з пробірками; колби місткістю 100 мл; лійки; фільтрувальний папір; насіння гороху або горохова мука; білок курячого яйця; пшенична мука; 10 %-й розчин $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ слабкий і концентрований розчин NaCl ; суха сіль NaCl ; концентровані кислоти HNO_3 , HCl , H_2SO_4 .

Основні відомості. Серед органічних речовин, що входять до складу рослини є білки. Вони виконують дуже важливі функції в клітинах (є компонентами мембран, беруть участь у транспорті речовин у клітину, слугують енергетичним матеріалом). За хімічною природою є азотовмісними високомолекулярними сполуками, які складаються з амінокислот (прості білки, протеїни) і небілкової частини (йони металів, залишку ортофосфорної кислоти, вуглеводів, ліпідів тощо –складні білки, протеїди) . Характерною особливістю зазначених вище речовин є їх здатність до гідролізу Усі ферменти (біокаталізатори), що зумовлюють процеси обміну речовин у рослинах, є білками. Завдяки білкам реалізується генетична інформація.

У рослинах багато білків накопичується у насінні, особливо бобових і олійних культур, наприклад, гороху, квасолі, сої, соняшника та ін. Із насіння цих рослин легко добувають препарати білків і використовують для вивчення хімічного складу, будови та інших властивостей цих важливих речовин.

Проведення роботи

3 – 5 г горохової муки висипають у колбу місткістю 100 мл, доливають 20 – 30 мл 10 %-го розчину $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ закривають колбу корком і збовтують протягом 3 хв. Далі вміст колби фільтрують через фільтр, змочений розчином сульфату амонію. Якщо фільтрат непрозорий, його знову фільтрують.

У добутому колоїдному розчині міститься білок глобулін (легумін), з яким проводять такі реакції:

1. Вивчають нерозчинність цього білка в воді. Для цього наливають у пробірку 1 мл добутого білкового препарату і додають надлишок води; при цьому утворюється каламуть внаслідок випадання в осад глобуліну. Якщо в розчин додати слабого розчину нейтральної солі $[\text{NaCl}, \text{H}_2\text{SO}_4]$, каламуть зникає в результаті розчинення осаду глобуліну.

2 Демонструють, як під дією концентрованих розчинів нейтральних солей висолюються білки. У пробірку наливають 2 – 3 мл розчину білків, додають концентрований розчин NaCl або суху кухонну сіль. Коли концентрація розчину досягне приблизно 50 %, глобулін почне випадати в осад, а розчин стане каламутним. Якщо знову в пробірці зменшити концентрацію солі шляхом додаванням води, то осаджений білок знову розчиниться.

3 Доводять, що кип'ятіння і дія концентрованих мінеральних кислот (HNO_3 , HCl , H_2SO_4) зумовлюють необоротний стан, так звану коагуляцію білка. В дві пробірки наливають по 2 – 3 мл розчину білка. Одну пробірку поступово на спиртівці нагрівають до кипіння, а в другу додають трохи концентрованої кислоти. В обох пробірках утворюється осад, який не розчиняється при додаванні розчину солі.

З рештою розчину, який залишився, проводять якісні реакції на виявлення білків.

Біуретова реакція. У пробірку до розчину білків додають 10 %-ий розчин лугу (NaOH або KOH). Далі краплями додають слабого розчину купрум сульфату (CuSO_4). Спостерігають утворення осаду гідроксиду міді (II). За наявності білків осад розчиняється і зафарбовує розчин у фіолетове забарвлення, оскільки в молекулі білка наявний пептидний зв'язок. Біуретова реакція характерна для усіх білків, а також продуктів їхнього гідролізу – пептонів і поліпептидів.

Ксантопротеїнова реакція. У пробірку до розчину білків доливають кілька крапель міцної HNO_3 . Спостерігають коагуляцію білків, у результаті якої утворюється осад. Розчин і осад при цьому зафарбовуються в жовтий колір. Ця реакція характерна для білків, що містять у складі молекули угруповання з бензольними кільцями.

Робота 4. Виявлення активності дегідрогеназ у насінні гороху

Мета: навчитися виявляти активність ензиму (ферменту) дегідрогенази у насінні гороху.

Обладнання, матеріали, реактиви: термостат; водяна баня; термометри; пробірки; гумові корки для закривання пробірок; насіння гороху; водний розчин метиленового синього.

Основні відомості. Згідно класифікації, прийнятої у 1961 р. Міжнародним біохімічним союзом всі ензими поділяють на 6 класів. Дегідрогенази належать до першого класу – оксидоредуктаз. Вони каталізують реакцію відщеплення гідрогену і приєднання його до іншої речовини, яка відновлюється, а перша (від якої відщеплено гідроген) – окиснюється. Дію дегідрогеназ можна проілюструвати такою схемою:



де Б – фермент дегідрогеназа.

У рослин дуже широко поширені дегідрогенази, бо окиснення в їхньому організмі переважно відбувається не приєднанням кисню, а завдяки дегідруванню, тобто шляхом відщеплення гідрогену.

За характером дії дегідрогенази поділяють на аеробні й анаеробні. Аеробні дегідрогенази, які часто називають оксидазами, переносять гідроген безпосередньо на молекулярний кисень, при цьому утворюється вода або пероксид водню. Анаеробні дегідрогенази можуть передавати гідроген іншим акцепторам (ферментам або органічним речовинам).

Найпростішим способом виявлення дії дегідрогеназ у шкільних умовах є проведення досліду з набубнявілим насінням гороху.

Проведення роботи

З набубнявілого насіння гороху обережно знімають шкірочку. Частину очищеного насіння убивають кип'ятінням у водній бані протягом 10 хв (контроль), другу частину насіння залишають живим (дослід). Після цього в одну пробірку кладуть убите насіння, а в другу – живе. В обидві пробірки наливають водний розчин метиленового синього і витримують 5 – 10 хв. Далі забарвлене насіння кілька разів промивають і заливають водою (для створення анаеробних умов). Пробірки закривають гумовими корками і ставлять на кілька годин у

термостат або водяну баню з температурою 25 – 30 °С.

По закінченні експозиції помічають, що убите насіння залишилось забарвленим в інтенсивно синій колір, а живе насіння повністю знебарвилось. Втрата забарвлення живим насінням пояснюється тим, що дегідрогегідроген від дихального субстрату і передали його метиленовому синьому. Останній, приєднавши гідроген, відновлюється і знебарвлюється. Вбите насіння залишалось забарвленим тому, що під час кип'ятіння в ньому інактивовано (вбито) дегідрогенази. Результати дослідження замалюйте у робочому зошиті.

Робота 5. Спостереження за гідролізом крохмалю ензимом амілазою

Мета: навчитися виявляти активність ензиму амілази у пророслих зернівках злакових культур та пророслих бульбах картоплі.

Обладнання, матеріали, реактиви: мікроскопи; предметні і накривні скельця; ланцети; препарувальні голки; пророслі зернівки пшениці та інших злакових культур; пророслі бульби картоплі.

Основні відомості. Ферменти (ензими) – біологічні каталізатори, які прискорюють численні біохімічні реакції. Вони беруть безпосередню участь у різних перетвореннях речовин у проростаючому насінні.

Одним з найпростіших дослідів, за допомогою якого можна виявити роль ензимів у перетворенні вуглеводів у пророслому насінні, є спостереження під мікроскопом за дією ензиму амілази на крохмальні зерна. Цей фермент гідролізує не тільки цілі крохмальні зерна, а й крохмальний клейстер. Гідролітичне розщеплення крохмальних зерен амілазою супроводжується утворенням мальтози і поступовою зміною крохмального зерна. Воно немовби роз'їдається ензимом і втрачає свою початкову форму.

Проведення роботи

З пророслої зернівки пшениці або іншого злака ланцетом беруть шматочок ендосперму і кладуть його в краплину води на предметному склі та добре розмішують препарувальною голкою. Препарат накривають накривним скельцем і розглядають під мікроскопом при малому, а потім при великому збільшеннях. При цьому добре видно різні ступені роз'їдання крохмальних зерен амілазою. Особливо наочно

можна спостерігати це явище на крохмальних зернах, добутих з пророслих бульб картоплі.

Різні ступені гідролізу крохмальних зерен у процесі вивчення доцільно зарисувати в зошитах і зробити висновок про те, що крохмаль під час проростання насіння під впливом амілази перетворюється на цукор, який використовується проростком насінини в процесі життєдіяльності.

Робота 6. Явище плазмолізу і деплазмолізу, форми плазмолізу

Мета: навчитися виготовляти зрізи з забарвленої луски цибулі та листка традесканції, виявляти явища плазмолізу і деплазмолізу, різні форми плазмолізу в клітинах епідерми синьої цибулі та листка традесканції в лабораторних умовах за допомогою розчинів плазмолітиків.

Обладнання, матеріали, реактиви: мікроскопи, предметні стекла, накривні скельця, скальпелі, бритвочки, пінцети, препарувальні голки, скляні палички, крапельниці з водою, піпетки, спиртівки, фільтрувальний папір, 1 М розчини плазмолітиків (сахарози, KNO_3 , NaCl , KCl , $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$), луски синьозабарвленої цибулі, листки традесканції або інші матеріали.

Основні відомості. Плазмоліз – це фізіологічний процес, у результаті якого внаслідок втрати води відокремлюється протопласт від оболонки рослинної клітини. Явище плазмолізу у лабораторних умовах спостерігається у результаті впливу на тканини рослин гіпертонічних розчинів або плазмолітиків (1 М р-ни сахарози, калій нітрату (KNO_3), натрій хлориду (NaCl), калій хлориду (KCl), кальцій нітрату ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$), концентрація яких більша, порівняно з вакуолярним соком клітини. За дії плазмолітиків зменшується об'єм вакуолі через втрату внутрішньоклітинної води. Плазмоліз характерний лише для живої та функціонально-цілісної клітини. При насиченні клітини водою у гіпотонічному розчині протопласт пристає до оболонки. Це явище протилежне плазмолізу і називається деплазмолізом.

Форма плазмолізу залежить від ступеня в'язкості протопласта. При низькій в'язкості протопласта спостерігають опуклу (округлу) форму плазмолізу, при більш щільній – спазматичну. Угнута (ввігнута) форма плазмолізу є початковою за впливу на тканини гіпертонічного розчину

плазмолітика. На в'язкість протопласта і, відповідно, форму плазмолізу впливають катіони плазмолітика. Наприклад, іони двох- та тривалентних металів (кальцію, магнію, алюмінію) підвищують в'язкість цитоплазми, а іони одновалентних (калію, натрію) – зменшують.

У зів'ялих рослин явище плазмолізу виявити неможливо, оскільки протопласт не відстає від оболонки, плазмалема не відокремлюється від оболонки і клітина зморщується. Це явище називається циторизом.

Явище плазмолізу в лабораторних умовах найкраще спостерігати в рослин із забарвленим клітинним соком (епідерма синьозабарвленої цибулі, листків традесканції), оскільки сама цитоплазма безбарвна.

Проведення роботи

Для виявлення явищ плазмолізу та деплазмолізу необхідно з луски синьозабарвленої цибулі виготовити за допомогою бритвочки тоненький зріз забарвленої епідерми, розміром 0,5 x 0,5 см, помістити його в краплину води на предметне скло і накрити накривним скельцем.

Досліджуваний об'єкт на предметному склі розглянути під мікроскопом при малому збільшенні (8*). Відшукати недеформовані клітини з найінтенсивнішим забарвленням.

З одного боку накривного скельця шматочком фільтрувального паперу відтягнути воду від препарату. З протилежного боку нанести піпеткою декілька крапель розчину плазмолітика (1 М р-ну сахарози, або 1 М р-ну KNO_3 , або 1 М р-ну NaCl). Препарат розглянути під мікроскопом. Через 1-4 хвилини за впливу плазмолітика вода почне виходити з клітини.

Спостерігайте в окуляр, як цитоплазма починає відставати від оболонки в кутиках клітини. Це ввігнута форма плазмолізу. Відокремлення збільшується, і за низької в'язкості протопласт набуває овальної форми посередині клітини. Поступово цитоплазма зменшується в об'ємі і протопласт повністю відстане від оболонки і округлиться. Це опукла форма плазмолізу.

Спазматичну форму плазмолізу в клітинах епідерми синьозабарвленої цибулі виявляють за дії 1 М розчину $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ за зазначеною вище методикою.

Щоб виявити явище деплазмолізу з одного боку накривного скла

піпеткою нанести декілька крапель води і з протилежного боку відтягнути її фільтрувальним папером 3-4 рази. Тобто, під накривним склом необхідно створити розчин з меншою концентрацією, порівняно з клітинним соком. За насичення клітини водою (в результаті заміни розчину плазмолітика) її вакуоля збільшується і протопласт поступово повністю заповнює всю клітину.

Результати дослідження замалювати у робочому зошиті.

Робота 7. Ковпачковий плазмоліз

Мета: навчитися виготовляти зрізи з забарвленої луски цибулі та листка традесканції, виявляти ковпачкову форму плазмолізу.

Обладнання, матеріали та реактиви: мікроскопи, предметні стекла, накривні скельця, скальпелі, бритвочки, пінцети, препарувальні голки, скляні палички, стаканчики з водою, піпетки, спиртівки, фільтрувальний папір, 1 М розчин KNO_3 , луски синьозабарвленої цибулі, листки традесканції або інші об'єкти.

Проведення роботи

Для виявлення ковпачкового плазмолізу необхідно з забарвленої сторони луски цибулі виготовити тоненький зріз епідерми, розміром 0,5 x 0,5 см і помістити його в 1 М розчин калій нітрату на 15-30 хв.

Розглянути у полі зору мікроскопу клітини з опуклим ковпачковим плазмолізом. На обох полюсах прозенхімних клітин епідерми синьозабарвленої луски цибулі видно набряклу цитоплазму, що має вигляд ковпачків. Ковпачки утворюються в результаті набухання колоїдів цитоплазми під впливом проникнення іонів K^+ і NO_3^- через плазмалему в мезоплазму, які є осмотично активними. Через тонопласт зазначені іони майже не проникають або проникають дуже повільно.

Результати дослідження замалювати у робочому зошиті.

Робота 8. Визначення осмотичного тиску клітинного соку плазмолітичним методом (за де-Фрізом)

Мета: навчитися виготовляти зрізи з епідерми синьозабарвленої цибулі, за явищем плазмолізу обчислювати ізотонічну концентрацію і

визначати абсолютну температуру та осмотичний тиск клітинного соку за рівнянням Вант-Гоффа.

Обладнання, матеріали, реактиви: мікроскопи; предметні і накривні скельця; бритви; бюретки; пробірки, бюкси; пінцети; препарувальні голки; фільтрувальний папір; сьйозабарвлена цибуля; 1 М розчини сахарози і NaCl.

Основні відомості. У рослинну клітину з навколишнього середовища поступає вода, мінеральні солі тощо. Механізми транспорту через клітинні мембрани різних за фізико-хімічними властивостями речовин є різні. Процес поглинання зазначених речовин клітиною регулюється фізико-хімічними й метаболічними факторами. При надходженні води в клітину велике значення мають дифузія, осмос і електроосмос. Дифузія – це переміщення будь-якої речовини з однієї ділянки в сусідню, де концентрація зазначеної речовини менша, фізичне явище. Осмос – це дифузія води або іншого розчинника через напівпроникну мембрану, викликана різницею концентрацій або різницею хімічних потенціалів.

Сила, з якою молекули води долають мембрану, рухаючись за градієнтом водного потенціалу, створюється в розчині, розділеному напівпроникною мембраною, після того як буде досягнута рівновага з чистою водою, називається осмотичним тиском.

У дорослому стані рослинна клітина нагадує мішечок, в середині якого є порожнина оточена тонопластом (вакуоля) і містить водний розчин різних органічних і мінеральних речовин (клітинний сік). На величину осмотичного потенціалу клітинного соку впливає концентрація і ступінь дисоціації зазначених вище речовин. Хімічний потенціал води, яка оточує клітину, вищий, порівняно з водним потенціалом клітинного соку. На здатність клітини вбирати воду з навколишнього середовища впливає величина осмотичного тиску клітинного соку. Є різні методи визначення осмотичного тиску: плазмолітичний, кріоскопічний, за допомогою осмометрів. Найпростішим методом є плазмолітичний, який розробив де-Фріз. Метод ґрунтується на визначенні ізотонічної концентрації зовнішнього розчину, тобто концентрії, яка є еквівалентною концентрації клітинного соку. Визначивши експериментальним шляхом ізотонічну концентрацію, величину осмотичного тиску обчислюють за рівнянням

Вант-Гоффа: $P=RTCi$, де P – осмотичний тиск (Па), R – універсальна газова стала (0,0821л. атм/град. моль); T – абсолютна температура (-273° +кімнатна температура); C – ізотонічна концентрація, моль; i – ізотонічний коефіцієнт. Коефіцієнт Вант-Гоффа обчислюють за формулою: $i = 1 + \alpha (n-1)$; де α – ступінь дисоціації; n – кількість іонів, на яку дисоціює молекула. Ізотонічний коефіцієнт для 1 М розчину натрій хлориду (NaCl) становить 1,62.

Проведення роботи

З 1 М р-ну сахарози або 1 М р-ну натрій хлориду (NaCl) виготовляють шкалу різних концентрацій з таким розрахунком, щоб різниця між двома концентраціями дорівнювала 0,1 М. Такими концентраціями можуть бути: 0,1-, 0,2-, 0,3-, 0,4-, 0,5-, 0,6-, 0,7-молярні розчини сахарози або натрій хлориду. Готувати вищі концентрації недоцільно, оскільки вони будуть гіпертонічними. У пробірках об'єм розчину повинен бути однаковим (10 мл). Після цього пробірки закривають, щоб розчин не випаровувався і виготовляють зрізи з епідерми синьозабарвленої луски цибулі (по 2-3- зрізи на 1 пробірку). Виготовлені зрізи занурюють у дистильовану воду на годинниковому скельці і витримують 2-3 хв для видалення клітинного соку з пошкоджених клітин і насичення їх водою. Потім зрізи виймають з дистильованої води, на фільтрувальному папері підсушують і поступово занурюють у розчини через кожні 5 хв (спочатку краще поміщати зрізи в розчини з найвищою концентрацією) в пробірках і витримують у розчинах упродовж 20 хв. Після цього зрізи виймають, поміщають на предметне скло в краплину того самого розчину, накривають накривним скельцем і мікроскопують. Поступово розглядаючи в полі зору мікроскопа зрізи епідерми синьозабарвленої луски цибулі з усіх розчинів, встановлюють, за якої концентрації протопласт починає відставати від оболонки, тобто настає початкова стадія плазмолізу (ввігнута). За ступенем плазмолізу клітин епідерми синьозбарвленої луски цибулі у кожному розчині, знаходять ізотонічну концентрацію, яка є середнім арифметичним між концентрацією, за якої ще не виявлено плазмолізу, і концентрацією, яка його спричинює.

Визначивши ізотонічну концентрацію клітинного соку клітин епідерми синьозабарвленої луски цибулі, обчислюють його осмотичний

тиск за рівнянням Вант-Гоффа. Результати експериментальних досліджень записують у таблицю за такою формою і роблять відповідні висновки:

Об'єкт вид тканини	Час занурен- ня зрізів у розчин	Концентрація плазмолітика в М	Час виймання зрізу з розчину	Ступінь плазмолізу	Ізотонічна концентрація	Осмотичний тиск в атм.

ТЕМА. ВОДНИЙ РЕЖИМ РОСЛИН.

Робота 9. Визначення загального вмісту води в рослинному матеріалі

Мета: визначити відсотковий вміст води у вегетативних органах (листках і стеблах) деяких кімнатних рослин.

Обладнання, матеріали, реактиви: металічні бюкси, торсійні або електронні ваги, ножиці, сушильна шафа, листки та стебла рослин.

Основні відомості. Вода є складовою частиною маси всіх живих організмів. Її вміст у рослинних тканинах становить 70-90 %. Найменшу кількість води має дозріле насіння, що перебуває у стані спокою (12-14 %). У листках мезофітів її кількість становить близько 85 %, а в корені – до 99 % від сирої маси. Експериментальним шляхом встановлено найменше порогове значення вмісту води в клітинах, нижче цього показника рослинний організм гине. Таку воду називають гомеостатичною. Для різних видів рослин вміст гомеостатичної води неоднаковий. На кількість гомеостатичної води в тканинах впливає приналежність рослин до певної екологічної групи: гігрофіти містять в своїх органах 65-70 %, мезофіти – 45-60 %, ксерофіти – 25-27 %. Молекули води є диполями, що з'єднані Н-зв'язками з утворенням квазікристалічної структури.

Вода в житті рослин виконує надзвичайно важливі функції:

- об'єднує клітини, тканини та органи в цілісний організм рослини;
- слугує розчинником та забезпечує визхідний та низхідний транспорти по рослині речовин;
- впорядковує та стабілізує компартиенти клітини і структури рослини в цілому;
- слугує середовищем протікання біохімічних реакцій і є безпосереднім субстратом або продуктом метаболічних процесів (фотосинтез, дихання тощо);
- виконує функцію терморегуляції в організмі рослини
- регулює осмотичні властивості клітини, тургор, а відтак, і форму тканин, органів, рослини.

У рослині вода перебуває у вільному і зв'язаному стані (осмотично

зв'язана, капілярно зв'язана, колоїдно зв'язана) .

Проведення роботи

Беруть середній зразок з листків (перший) і стебел (другий) із досліджуваних видів кімнатних рослин, зважують їх на терезах (торсійних, електронних або аптечних) і висушують їх у сушильній до постійної маси за температури 105°C (при вищій температурі згорають органічні речовини). Після висушування зважують суху масу і визначають кількість води за формулою:

$$X = 100 \cdot (a - b) / a, \text{ де:}$$

X – кількість води, %

a – маса сирого рослинного матеріалу (г);

b – маса сухого рослинного матеріалу (г);

100 – коефіцієнт перерахунку в %.

Робота 10. Визначення водного дефіциту листків рослин

Мета: встановити видові особливості кімнатних рослин щодо здатності переносити посуху за величиною водного дефіциту.

Обладнання, матеріали, реактиви: торсійні або аналітичні терези, металеві або скляні бюкси, ексикатор, тигельні щипці, коркові свердла, кристалізатор, фільтрувальний папір, дослідні рослини.

Основні відомості. Компонентами водного балансу є поступання води в рослину через кореневу систему і надземні органи та випаровування води шляхом транспірації. При надходженні води в рослину у достатній кількості та помірній транспірації створюється сприятливий водний баланс. У ясний сонячний день ця рівновага порушується і виникає водний дефіцит. Якщо кількість випаруваної води рослиною є більшою порівняно з поглинутою, то в рослині виникає водний дефіцит.

Крім денного дефіциту, який не завдає рослині особливої шкоди, в рослині може виникати так званий залишковий водний дефіцит, який рослина не може поповнити навіть вночі. Виникнення залишкового дефіциту пов'язано із загальним погіршенням забезпечення рослини водою, з нестачею води в ґрунті. Отже, нестача води в ґрунті і повітрі порушує водний обмін

в рослині. Зниження оводненості тканин змінює стан біоколоїдів клітини, що призводить до пошкодження структури протоплазми. При цьому порушується нормальна діяльність ферментних систем, різко знижується інтенсивність фотосинтезу. Все це насамперед позначається негативно на ростових процесах, а потім і на врожайності.

Водний дефіцит визначають у відсотках від вмісту води в листках за насичення їх водою. Можна також визначати водний дефіцит у відсотках від сирої маси насичених листків водою. Зазначені показники можна використати для розв'язання питань про вплив водного дефіциту на фотосинтез і строки поливу рослин.

Проведення роботи

Для визначення водного дефіциту (ВД) листків рослин можна використати рослини відкритого ґрунту або кімнатні.

Для проведення дослідження доцільно у зимовий період не поливати кімнатні рослини протягом 6 днів, а в літній – 3 днів. Для визначення водного дефіциту з листків кімнатних рослин одного ярусу виготовляють за допомогою коркового свердла 10-15 висічок діаметром 16-18 мм. Висічки зважують на електронних або торсійних терезах і поміщають у стакан або чашку Петрі з водою для їх насичення і закривають посудини. Через 90 хв (експериментально встановлений час, який необхідний для насичення висічок водою) висічки витягують, фільтрувальним папером їх обсушують і знову зважують. За результатами двох зважувань знаходять кількість води, яку поглинули висічки і за нижче наведеною формулою обчислюють водний дефіцит:

$$\text{ВД} = 100 \cdot (в - а) / в,$$

де ВД – водний дефіцит листка (в % від маси висічок, повністю насичених водою);

а – маса висічок до насичення їх водою (мг);

в – маса висічок після насичення їх водою (мг).

Після зважування висічок, насичених водою, їх висушують за температури 105 °С у сушильній шафі до постійної маси і знову зважують. За отриманими результатами розраховують водний дефіцит

листка у відсотках від загальної кількості води в листку при повному насиченні його водою:

$$ВД = 100 \cdot (в - а) : (в - п),$$

де ВД – водний дефіцит листка (в % від маси листка, повністю насиченого водою);

а – маса висічок до насичення їх водою (г);

в – маса висічок після насичення їх водою (г);

п – вміст сухої речовини у зразку (г).

Результати дослідження записують за схемою, представленою у таблиці і згідно з ними можна побудувати графік.

Результати дослідження водного дефіциту листків деяких видів кімнатних рослин

Об'єкт	Маса висічок, г			Водний дефіцит, % до маси висічок з листка повністю насиченого водою	Водний дефіцит, % до маси води в насиченому водою висічках з листка
	а	в	п		

Робота 11. Визначення інтенсивності транспірації ваговим методом

Мета: навчитися визначати інтенсивність транспірації листків у різних видів кімнатних рослин, інтенсивність випаровування води з вільної водної поверхні, розраховувати відносну транспірацію.

Обладнання, матеріали, реактиви: аптечні ваги і різноважки; торсійні терези; кристалізатор; пробірки; вазелін; ножиці; міліметровий і фільтрувальний папір; чашки Петрі; дослідні рослини.

Основні відомості. Транспірація – складний фізіологічний процес випаровування води рослиною. Протягом онтогенезу транспірація виконує важливі функції: сприяє поглинанню та транспорту води по рослині, захищає рослину від перегрівання, впливає на процес фотосинтезу. Транспірації слугує верхнім рушієм води по рослині. Функцію нижнього рушія водяної течії виконує сила кореневого тиску. Залежно від утворів, через які випаровується вода транспірація у рослин буває продиховою (через продихи), кутикулярною (стінки епітеліальних клітин покритих кутикулою) і лентикулярною (через сочевички).

Характеризують транспірацію такі кількісні показники:

інтенсивність, продуктивність, коефіцієнт і відносність. *Інтенсивність транспірації* – це кількість води, яка випаровується з одиниці площі листової поверхні за одиницю часу, виражають у грамах на 1 м², 1 дм², 1 см² за годину. *Продуктивність транспірації* – це кількість сухої речовини, яка утворюється за час випаровування 1 кг води, становить у середньому 3 г сухої речовини за випаровування 1 кг води. Транспіраційний коефіцієнт показує, скільки води витрачає рослина на утворення одиниці сухої речовини, у середньому становить 300 одиниць, але може бути від 125 до 1000. Відносну транспірацію обчислюють за відношенням інтенсивності транспірації листка до інтенсивності випаровування з вільної водної поверхні. За величиною, менша одиниці.

Ваговий метод визначення інтенсивності та відносної транспірації ґрунтується на встановленні кількості води, яка випаровується, за зменшенням маси цілої рослини, пагона або окремого листка.

Проведення роботи

Інтенсивність транспірації можна досліджувати на кімнатних рослинах, або на рослинах, що зростають у польових умовах. Для дослідження інтенсивності випаровування води з поверхні листків у лабораторних умовах рекомендовано використовувати види кімнатних рослин з опушеними, покритими шаром воску чи кутину листками. Для визначення інтенсивності випаровування з вільної водної поверхні наливають у чашку Петрі довільну кількість води, зважують її і ставлять на випаровування води з відкритої поверхні (для визначення інтенсивності випаровування з вільної водної поверхні та відносної транспірації).

Через 1-2 год чашку Петрі з водою знову зважують. За різницею двох зважувань встановлюють, скільки води випарувалося з вільної водної поверхні чашки Петрі.

У дослідженні інтенсивності транспірації використовують листки без черешків. Ножицями зрізують листок кімнатної рослини і зважують його та торсійній вазі. Після зважування листок кладуть поруч з вагою для випаровування води (не можна тримати листок у долоні, оскільки температура організму людини вища, порівняно з кімнатною. Процес транспірації залежить від температури). Через 5 хв листок зважують

повторно. Встановлено, що протягом 5 хв зрізаний листок випаровує воду з такою ж інтенсивністю як на рослині. За різницею двох зважувань знаходять ту кількість води, що випарувалася з поверхні листка за 5 хв.

Для обчислення інтенсивності транспірації необхідно визначити площу листової поверхні, взяту для дослід. Її встановлюють методом зважування. Для цього листки рослини накладають на папір (краще на провощений, щоб не поглинав вологу рук дослідника), акуратно обводять олівцем, вирізають і зважують їх контури на торсійних терезах. З цього самого паперу вирізають квадрат в 25 см² і також зважують. За пропорцією знаходять площу листків:

$$a/b = c/S$$

де а – маса квадрата паперу в 25 см², мг;

b – маса контуру листка з паперу, мг;

c – площа квадрата, см²;

S – площа листка, см².

Обчисливши площу поверхні листка, обраховують інтенсивність транспірації за такою формулою:

$$J_t = \frac{n \cdot 60 \cdot 10000}{S \cdot t} \quad (\text{г}/(\text{м}^2 \cdot \text{год}))$$

де J_t – інтенсивність транспірації, г/м² за годину;

n – кількість води, яка випарувалася листком за час дослід, г;

S – площа листка, см²;

t – тривалість дослід, хв;

60 – коефіцієнт перерахунку хв у год;

10000 – коефіцієнт перерахунку, см² у м².

За цією ж самою формулою визначають й інтенсивність випаровування з вільної водної поверхні чашки Петрі. Площу чашки Петрі обчислюють за формулою $S = \pi r^2$

Відносну транспірацію (Т) визначають за відношення інтенсивності транспірації досліджуваних листків (J_t) до інтенсивності випаровування води з вільної поверхні (Е):

$$T = J_t/E$$

Під час проведення цієї роботи слухачі визначають інтенсивність транспірації старих і молодих листків рослини, у видів кімнатних

рослин різних екологічних груп (мезофітів, сукулентів тощо), у етіюльованих (вирощених у темноті) проростках та вирощених на світлі тощо. Результати дослідження записують у таблицю:

Варіанти дослідів	Час проведення дослідів, год		Тривалість дослідів, хв	Маса, г		Втрата маси, г	Площа, см ²	Інтенсивність транспірації (г/м ² *год)
	початок	кінець		на початку	в кінці			

На основі отриманих результатів дослідження роблять висновки, порівнюють показники інтенсивності транспірації видів кімнатних рослин з різною морфологічною будовою листків.

Робота 12. Спостереження за дією кореневого тиску в кімнатних рослин

Мета: навчитися у лабораторних умовах виявляти «плач» рослин на прикладі кімнатної рослини фуксії.

Обладнання, матеріали, реактиви: скляні й гумові трубочки; мірні циліндри; градуйовані пробірки; термометри; кристалізатори; бритви; нитки; вата; лід; кімнатні рослини: фуксія, пеларгонія (у зимовий період), рослини відкритого ґрунту: соняшник, картопля, огірки, гарбузи, помідори, квасоля, амарант (влітку).

Основні відомості. Наявність сили кореневого тиску у рослин, який слугує нижнім кінцевим рушієм води і розчинених у ній мінеральних речовин, можна спостерігати за таким фізіологічним процесом, як «плач». «Плач» – це витікання пасоки через поранену ділянку рослини, є прижиттєвим одностороннім потоком води і поживних речовин, залежить від аеробного перетворення асимілятів. Вода у судини ксилеми потрапляє за градієнтом водного потенціалу, тобто осмотичним шляхом. Розчинені мінеральні речовини та продукти метаболізму є осмотично активними речовинами і мають здатність притягувати диполі води. Вони транспортуються іонними насосами, що розміщені в мембрані-плазмалемі паренхімних клітин, які оточують судини і накопичуються у них. У результаті цього створюється сисна

сила, яка сприяє осмотичному поступанню води в судини ксилеми. Отже, у результаті активної роботи іонних насосів у клітинах кореня і осмотичному поступанню води в судини ксилеми в них розвивається гідростатичний тиск, який отримав назву кореневого тиску. Завдяки його наявності, спостерігаємо підняття розчину по судинах ксилеми з клітин кореня в надземні органи. Таким чином, поглинання води кореневою системою здійснюється завдяки роботі двох рушіїв водяного потоку: верхнього, або присмоктуючої сили транспірації, і нижнього, або кореневого тиску. В.М. Жолкевич показав, що кореневий тиск включає осмотичну та метаболічну (потребує енергії АТФ; беруть участь актиноподібні білки) складові. Основною силою, яка сприяє поступанню і транспорту води в рослині слугує присмоктувальна сила транспірації (випаровування). Вона зумовлює виникнення градієнта водного потенціалу. Присмоктувальна сила транспірації (верхній рушій водяного потоку) мало пов'язана з процесами життєдіяльності кореневої системи. Ця сила здатна активно рухати воду клітинами кореня в радіальному напрямку – через кореневі волоски, клітини корової паренхіми, ендодерму з поясками Каспарі, перицикл у судини ксилеми кореня. Рух води в коренях відбувається активно. Його наявність можна спостерігати в природі та у лабораторних умовах. Якщо рослину, яка виросла з насіння, зрізати на межі кореневої шийки, то на поверхні зрізаної ділянки можна побачити краплини рідини. Силу кореневого тиску можна виміряти, якщо на зрізаний пенёк прикріпити манометр (прилад для вимірювання тиску). Величина кореневого тиску за даними Д.А.Сабініна становить 0,1-0,15 мПа, (1-3) атм.

«Плач» рослин можна спостерігати навесні до розпускання бруньок деревами, зокрема, під час збирання березового соку. Сік, який виділяється при «плачі» рослини називають ксилемним, або патокою. Він містить воду та розчинені в ній речовини мінерального і органічного походження. Розрізняють весняний (відбувається до розпускання листків) і літній (після розпускання листків) «плач». Під час весняного «плачу» виділяється більша кількість соку порівняно з літнім. Це пов'язано з тим, що влітку відбувається інтенсивне випаровування води. Літній «плач» може зовсім не виявлятися: у зазначений час можна спостерігати навіть так званий негативний «плач»: коли налити воду на зрізаний пенёк, то вона буде поглинатися.

За хімічним складом ксилемний сік навесні і влітку істотно відрізняється. У його складі навесні є більше вуглеводів (головним чином інвертних), деякі органічні кислоти, зокрема яблучна, незначна кількість речовин білкового походження, а також низка ензимів, серед яких діастаза і пероксидаза. Склад пасоки залежить від видових особливостей рослин: зокрема, найбільший вміст цукрів у ксилемному соці американської агави – до 9%, дещо менший – клена – до 3,5% і берези – до 2 %. Пасока літнього плачу характеризується нижчим вмістом органічних речовин, зокрема, цукри можуть бути відсутні, але значно більше органічних кислот. Інтенсивність плачу у рослин підвищується після поливання. У лабораторних умовах для демонстрації «плачу» можна використати фуксію.

Добовий ритм виділення соку спостерігається під час «плачу», який у різних рослин відбувається неоднаково і залежить від їхніх біологічних особливостей та умов навколишнього середовища. «Плач» рослин – осмотичне явище, тісно пов'язане з життєдіяльністю рослини. Із факторів середовища на «плач» рослин значно впливають вологість, аерація, температура в прикореневому шарі, концентрація навколишнього розчину тощо.

Проведення роботи

Перед закладанням досліду ввечері і ранком добре поливають рослини, на яких проводитимуться досліди. Найкращими для цього досліду є рослини відкритого ґрунту, зокрема, кукурудза, соняшник, картопля, помідори, боби, амарант та ін. Навесні під час інтенсивного сокоруху цю роботу проводять на деревних рослинах (найкраще на березі). У лабораторних умовах найкраще використовувати кімнатну рослину фуксію. Вранці стебла дослідних рослин зрізають гострим ножем, залишаючи пеньок 2-3 см заввишки. Всі бічні гілки на пеньку обрізають. На пеньок якнайшвидше натягують гумову трубочку з вставленою в неї зігнутою під гострим кутом скляною трубкою. Діаметр трубки повинен відповідати діаметру стебла. Другий кінець скляної трубочки опускають у градуйовану пробірку і закривають ватним корком. Дослід доцільно закладати на різних видах рослин не менш ніж три рази. Спостереження проводять через кожні 2 год протягом дня. Наступного ранку вимірюють кількість виділеної пасоки за день і ніч.

На основі проведеного дослідження роблять висновок.

Робота 13. Спостереження за явищем гутації у рослин

Мета: виявити в лабораторних умовах явище гутації молодих проростків злакових культур. Встановити вплив хлороформу, температури ґрунту й вологості повітря на процес гутації

Обладнання, матеріали, реактиви: водяна баня; кристалізатори; термометри; склянні ковпаки з шторкою; хлороформ, фільтрувальний папір; проростки пшениці, ячменю, вівса та інших злаків; фуксія; філодендрон;

Основні відомості. Наявність сили кореневого тиску у рослин, яка слугує нижнім рушієм руху води, крім «плачу», підтверджує явище гутації. Гутацію в природі можна спостерігати за високої вологості повітря в похмурі дні восени або навесні, коли випаровування води невелике, а надходження її в рослину достатнє. Гутація є фізіологічним явищем, виникає внаслідок однобічної течії води через кореневі системи і проходить за відсутності транспірації. Порівняно з «плачем» гутація не пов'язана з пошкодженням рослини. Гутаційна крапля (гута) виділяється через водяні продихи, які називають гідатоми. За хімічним складом гута бідніша порівняно з пасокою, що пов'язано з наявністю епітеми (тканина, що виконує функцію фільтра у гідатоді).

Гутація підтримує у рослин рівновагу між поглинанням і випаровуванням води, виконує також пристосувальне значення, наприклад, у водяних рослин виділення вологи шляхом гутації єдино можливий.

Проведення роботи

Явище гутації в умовах лабораторії вивчають на молодих проростках злакових культур (пшениця, жито, ячмінь), вирощених у темряві. Перед заняттям чашку Петрі з проростками виймають з темного місця, добре поливають, розміщують на скляній пластинці і накривають скляним ковпаком з шторкою (можна використати склянку з діркою), нижні стінки якого змащують вазеліном, щоб не було циркуляції повітря. Через 30-60 хв після накривання спостерігають утворення краплин води на верхівках проростків (явище гутації). Після

цього їх обережно знімають фільтрувальним папером через шторку в ковпаку. Досить швидко знову з'являються краплинки води. Їх також знімають і під ковпак кладуть ватку, змочену хлороформом, щоб середовище з дослідними рослинами було насичене його паром хлороформу. В зазначених умовах гутація не відбувається.

Якщо вату з хлороформом з-під ковпака забрати, то гутація відновиться. Це пояснюється тим, що хлороформ пригнічує діяльність кореневої системи, а поглинання води кореневою системою є активним фізіологічним процесом.

Дослідження впливу температури ґрунту й вологості повітря на процес гутації. Беруть 4 посудини з проростками злакових рослин. Одну посудину поміщають у кристалізатор з водою кімнатної температури, другу – в кристалізатор із снігом або льодом, а третю – у кристалізатор з водою, нагрітою до температури 35°C. Четверту (контроль) – залишають при кімнатних умовах. Після цього смужкою фільтрувального паперу забирають на проростках краплі рідини, накривають перших три посудини ковпаками і спостерігають за швидкістю виділення краплин гуті на кінчиках проростків. Для кращої точності експерименту, після появи перших краплин гуті їх знімають смужкою фільтрувального паперу через шторки в ковпаках і після цього відмічають, за скільки хвилин виділяться нові краплі рідини. Результати експериментального дослідження записують у таблицю за такою схемою:

Об'єкт	Умови досліду	Проростки під склянками			Проростки без накривання
		0°C	18°C	35°C	

На основі результатів роблять висновки і пояснюють, чому гутація відбувається з різною інтенсивністю за різних умов.

Робота 14. Визначення транспірації верхнього і нижнього боків листка за допомогою хлоркобальтового паперу (за Шталем)

Мета: визначити, з якого боку листка інтенсивніше випаровується вода в різних кімнатних рослин або сільськогосподарських культурах, вранці і опівдні.

Обладнання, матеріали, реактиви: фільтрувальний папір, ножиці, скляні бюкси, предметні скла, пінцети, дерев'яні або пластмасові прищіпки, електроплитка або сушильна шафа, 5 %-й розчин кобальт хлориду, дослідні рослини.

Основні відомості. Транспірація – це фізіологічний процес випаровування води з поверхні рослини. Воду рослина випаровує через продихи (продихова транспірація), поверхню кутикули, що вкриває оболонки епідермальних клітин (кутикулярна транспірація) та сочевички (лентикулярна транспірація). Процес транспірації залежить від особливостей будови листка, стану його клітин і тканин та гідрометеорологічних факторів.

Метод хлоркобальтового паперу, який розробив Шталь, дає змогу порівняти інтенсивність транспірації верхнього і нижнього боків листка. Він ґрунтується на зміні забарвлення фільтрувального папірця, змоченого 5 %-м розчином кобальт хлориду і висушеного до абсолютно сухого стану при поглинанні ним водяної пари під час випаровування. За часом, який необхідний для зміни забарвлення блакитного (CoCl_2) хлоркобальтового папірця в рожевий ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) оцінюють інтенсивність транспірації верхньої і нижньої сторони листової поверхні. Метод Шталя можна використовувати і для спостереження за добовим рухом продихів.

Проведення роботи

Для проведення роботи необхідно виготовити хлоркобальтовий папір. Його виготовляють з фільтрувального, який намочують у 5 %-му розчині кобальт хлориду $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ і поступово просушують спочатку між сухими аркушами фільтрувального паперу, а потім при кімнатній температурі до повітряно-сухого стану. Після цього смужки паперу розрізають на квадратики (1 см*1 см). Щоб папір став блакитним, його

підсушують в сушильній шафі або над електричною плиткою і зберігають в бюксах з притертим корком.

Для визначення інтенсивності випаровування пінцетом беруть квадратики блакитного хлоркобальтового паперу, прикладають швидко з обох боків до листка і накривають їх предметними склами, щоб притримувати їх та перешкодити поглинанню вологи з атмосфери. Предметні скла скріплюють дерев'яними, або пластмасовими прищіпками.

Спостерігають, через скільки хвилин стануть рожевими блакитні хлоркобальтові папірці на верхній поверхні та на нижній поверхні листків. За часом порожевіння хлоркобальтових папірців роблять висновок, з якої поверхні листка інтенсивніше відбувається транспірація.

Результати дослідження записують у таблицю.

**Результати дослідження інтенсивності випаровування води з
верхньої і нижньої поверхні листка різних видів кімнатних рослин
хлоркобальтовим методом**

№ п/ р	Об'єкт	Поверхня листка	Час порожевіння папірців, хв		Примітка
			9 ⁰⁰	12 ⁰⁰	
		верхня			
		нижня			

**Робота 15. Вивчення стану продихового апарату рослин
інфільтраційним методом (за Молішом).**

Мета: визначити, в якому стані знаходяться продихи на нижній поверхні листка у різних видів кімнатних або сільськогосподарських рослинах у різні години дня.

Обладнання, матеріали, реактиви: скляні баночки з піпетками, спирт, бензол, ксилол, бензин, дослідні рослини.

Основні відомості. Основна кількість води з поверхні рослини випаровується через продихи. Тому дослідження стану продихового апарату необхідне для пояснення показників інтенсивності транспірації в різних видів рослин.

Продихи розміщені між клітинами епідерми, здебільшого нижньої поверхні листка. Вони складається з двох замикаючих клітин та продихової щілини. У дводольних рослин замикаючі клітини мають бобоподібну форму, а в однодольних – циліндричну. Особливістю замикаючих клітин продихів є наявність хлоропластів і нерівномірно потовщені оболонки. Стінка бобоподібних замикаючих клітин, що межує з продиховою щілиною потовщена, а протилежна – опукла – тонка, в циліндричних – тонші стінки на кінцях клітин. Продихова щілина має передній дворик, який виходить назовні і задній, що з'єднаний із повітряною порожниною. Розміри продихової щілини регулюються величиною тургорного тиску в замикаючих клітинах, тобто вмістом в них води.

Залежно від видових особливостей рослин продихи розміщені по-різному, частіше з нижнього боку листової пластинки, рідше – з верхнього (капуста). Площа продихових щілин коливається від 1 до 2 % всієї поверхні листка. У різних видів рослин кількість продихів на листках може становити від 40 до 600 на 1мм^2 . В однодольних рослин на листках з паралельним жилкуванням продихи розміщені паралельними рядами, а в дводольних, для листків яких характерне сітчасте жилкування – без певного порядку, рівномірно, хаотично.

Згідно сучасної іонної теорії на рух продихів впливає концентрація іонів калію у замикаючих клітинах. Вона змінюється завдяки дії іонних калієвих насосів, що перерозподіляють калій між замикаючими клітинами продихів і оточуючими епідермальними клітинами. Відкривання продихів пов'язане із збільшенням в них іонів калію (осмотично активний катіон) і, відповідно, осмотичного потенціалу. За зниження концентрації іонів калію у замикаючих клітинах знижується осмотичний потенціал і продихова щілина закривається.

Г. Моліш запропонував досліджувати стан продихового апарату за здатністю рідин проникати у щілини, оскільки продих має щілину, а її розміри змінюються залежно від вмісту води у замикаючих клітинах. Різні рідини неоднаково проникають у різні за розміром продихові щілини продихів листка. Рідини, які проникають через широкі продихові щілини в міжклітинники, витісняють з них повітря, внаслідок цього ці ділянки листка мають плями, які розглядають на світлі. Як інфільтруючі речовини рекомендовано використовувати рідини, які характеризуються

різною в'язкістю і здатністю змочувати оболонки клітин та по-різному проникають через продихові щілини в міжклітинники. Для дослідження стану продихового апарату найчастіше використовують бензин, ксилол, бензол і спирт. Бензин і ксилол дуже легко проникають у міжклітинники, бензол – гірше і найгірше – спирт.

Послідовно використовуючи зазначені вище рідини можна досліджувати стан продихового апарату в різних видів кімнатних рослин або сільськогосподарських культур.

Методом інфільтрації досліджують у рослин також хід продихових рухів протягом доби.

Проведення роботи

На різні ділянки нижньої поверхні листків досліджуваних рослин послідовно наносять піпеткою маленькі краплини спирту, бензолу, ксилолу або бензину. Листки розміщують у горизонтальному положенні і спостерігають за станом крапель рідин до їх зникнення. Залежно від стану продихового апарату краплі випаровуються або проникають всередину листка. Після цього листки розглядають на світлі. Якщо продихова щілина відкрита, то рідина проникла в міжклітинники і на листку видно прозорі плями. Якщо продихи листка повністю закриті, то зазначені вище речовини швидко випаровуються з поверхні листка і прозорі плями не виявляються. Краплі всіх інфільтруючих рідин швидко проникають у міжклітинники, якщо продихові щілини широко відкриті, якщо продихи напіввідкриті – плями на листку виявляють від бензолу, ксилолу або бензину, а якщо продихи злегка відкриті, пляма буде лише від бензину або ксилолу. Стан продихів (відкриті, закриті, напіввідкриті, злегка відкриті) оцінюють за ступенем проникнення речовин у листок і позначають: «+» – речовина проникає, «-» – речовина не проникає. Результати досліджень записати в таблицю і узагальнити у формі висновків.

Результати дослідження стану продихового апарату в різних сільськогосподарських рослинах інфільтраційним методом

№ за/п	Об'єкт	Проникнення речовин у листок			Стан продихів		Примітка
		спирт	бензол	ксилол або	9 ⁰⁰	12 ⁰⁰	

				бензин			
1.							
2.							

Робота 16. Дослідження стану продихів за методом Молотковського-Полаччі

Мета: дослідити добовий хід руху продихів в різних видів кімнатних або сільськогосподарських рослин, оцінити їх стан вранці і опівдні, виявити відмінні ознаки у будові продихів однодольних і дводольних рослин.

Обладнання, матеріали, реактиви: мікроскопи, предметні і покривні скла, скляні палички або пензлики, пінцети, кіноплівка, ацетон, розчин колодію, грушева есенція, безбарвний манікюрний лак, дослідні рослини.

Основні відомості. Для продихів характерний добовий хід руху. У більшості видів рослин продихи на світанку з 6.00 год відкриваються і максимальні розміри продихової щілини виявлено зранку. Удень, з 12.00 год до 16.00 год – вони закриті, після 16.00 – продихові щілини знову відкриваються, а вночі закриваються. Англійський дослідник Лофтфельд досліджуючи процес випаровування води з поверхні рослини і продихову транспірацію прокласифікував усі рослини за ходом продихових рухів упродовж доби на 3 групи: 1) види рослин, у яких продихи вночі закриті завжди. Зранку вони відкриваються і їх стан упродовж дня залежить від умов середовища. За дефіциту води – вони закриваються, а за достатньої кількості води – відкриваються. До першої групи належать хлібні злаки; 2) види рослин, зранку в яких продихи відкриваються, а упродовж дня, відкриті або закриті залежно від умов середовища. Стан продихів уночі залежить від денної. Якщо упродовж дня продихи перебували у закритому стані, то протягом ночі вони відкриваються і навпаки. Такий добових хід руху продихів характерний для рослини з тонкими листками, наприклад: люцерна, горох, конюшина тощо; 3) види рослин, у яких упродовж ночі продихи завжди відкриті (сукуленти), а протягом дня, як і у вищезазначених інших груп рослин, залежно від умов навколишнього середовища – відкриті або закриті.

Стан продихового апарату впливає на інтенсивність транспірації. У нічний період доби транспірація істотно скорочується і становить лише

3-5 % від денної. Упродовж ночі підвищується вологість повітря, знижується температура, відсутнє світло (зовнішні фактори довкілля) і закриваються продихи (внутрішні особливості).

Істотно впливає на рух продихів рівень забезпечення клітин водою. Згідно сучасної йонної теорії стан продихового апарату залежить від концентрації йонів калію і супутніх їм аніонів, які є осмотично активними, тобто забезпечують надходження води. Вдень на світлі у замикаючих клітинах накопичуються йони калію, що приводить до збільшення осмотичного потенціалу. В результаті цього зовнішні оболонки замикаючих клітин розтягуються і продих відкривається. В темряві йони калію транспортуються із замикаючих клітин до оточуючих клітин епідермісу, що супроводжується відтоком води, і продих закривається.

Проведення роботи

Для дослідження стану продихів використовують речовини, які швидко висихають і при цьому утворюють плівку. Такими речовинами можуть бути: розчин кіноплівки в ацетоні або грушевій есенції, розчин колодію, безбарвний манікюрний лак, білок курячого яйця. Для виготовлення розчину кіноплівки в ацетоні, видаляють шар емульсії шляхом промивання гарячою водою з лугом, потім споліскують плівку у теплій воді, подрібнюють і заливають ацетоном або грушевою есенцією. Плівка добре розчиняється і в результаті утворюється сироподібний розчин.

Досліджують стан продихового апарату з нижньої поверхні листової пластинки. На нижню поверхню листка наносять скляною паличкою або пензликом мазок з вищезазначених розчинів. Після повного висихання розчинів на місці мазка утворюється тоненька прозора плівочка з точним відбитком поверхні листка. Плівку акуратно знімають пінцетом, поміщають на предметне скло, накривають покривним і мікроскопують спочатку при малому збільшенні, а потім – великому збільшенні. Препарат розглядають і визначають стан продихів, знаходять спільні та відмінні ознаки у будові продихів однодольних та дводольних рослин.

Замалювати продихи однодольних та дводольних рослин і відмітити у висновку їх стан.

ТЕМА. ФОТОСИНТЕЗ

Робота 17. Способи добування витяжки пігментів хлоропластів

Мета: навчитися добувати спиртову витяжку пластидних пігментів з свіжих зелених листків.

Обладнання, матеріали, реактиви: насос Комовського; фарфорові ступки; ножиці; лійки; скляні фільтри; пробірки; піпетки місткістю 1-5 мл; скляні палички; фільтрувальний папір; зелені листки; чистий кварцовий пісок; етиловий спирт; ацетон; бензин; петролейний ефір; $MgCO_3$; $CaCO_3$; вазелін.

Основні відомості. Для дослідження хімічних і фізичних властивостей пігментів хлоропластів, їх виділяють із свіжих або фіксованих зелених тканин рослин і відділяють один від одного. Пластидні пігменти листків добре розчиняються в жиророзчинниках. Вибираючи розчинники, треба враховувати розчинність самих пігментів. Залежно від хімічного складу, розчинники поділяють на полярні (спирти, ацетон) і неполярні (бензин, петролейний ефір, гексан та ін.).

Зелені і жовті пігменти хлоропластів є ліпофільними сполуками, і тому добре розчиняються у всіх вищезазначених розчинниках. Найкраще зелені пігменти екстрагуються з листків сумішшю полярних і неполярних розчинників або полярними розчинниками. У навчальних лабораторіях найчастіше пластидні пігменти вилучають з листків спиртом або ацетоном.

Проведення роботи

Із свіжих зелених листків (без середньої жилки і черешка) відважують 0,5-1,0 г, подрібнюють ножицями і поміщають у ступку. До подрібненої маси на кінчику скальпеля додають $MgCO_3$ або $CaCO_3$ (для нейтралізації кислот клітинного соку), трохи чистого кварцового піску або подрібненого скла і 5 мл 95 %-го розчину спирту. Суміш старанно розтирають до однорідної маси і поступово доливають (5 мл) етилового спирту. Після цього носик ступки із зовнішнього боку змазують вазеліном і обережно по скляній паличці зливають розтерту масу у лійку з складчастим фільтром або переносять на скляний фільтр № 3. Залишок у ступці і на фільтрі промивають невеликими порціями 80 %-

го розчину спирту до повного вилучення хлорофілу. Фільтрат переносять у мірну колбочку, доводять до мітки (25-30 мл) і залежно від поставленого завдання досліджують пігменти.

Для екстракції хлорофілу з сухого матеріалу беруть певну наважку сухих листків, кладуть у конічну колбу об'ємом 200 мл і обливають кип'яченою водою. Після цього воду зливають, додають 100 мл етилового спирту, закривають колбу корком із зворотним холодильником, кип'ятять на водяній бані 5 хв, охолоджують і витяжку обережно зливають у другу чисту колбу. Екстракт використовують для дослідів.

Робота 18. Явище флуоресценції зелених пігментів

Мета: ознайомитися з фізичними властивостями хлорофілів та навчитися виявляти явище флуоресценції зелених пігментів.

Обладнання, матеріали, реактиви: пробірки; спиртова витяжка пігментів зеленого листка; мікроскопи; предметні і накривні скельця; електрична лампа; елодея.

Основні відомості. Хлорофіли характеризуються такими фізичними властивостями: здатність розчинятися у жиророзчинниках, наявність зеленого забарвлення, вибіркове поглинання світлової енергії, здатність до флуоресценції (від лат. *fluor* – потік, та *esentia* – короткочасне світіння) та фосфоресценції, вицвітати. Випромінювання світлової енергії при переході фотозбудженої молекули хлорофілу з синглетного стану збудження до основного стану називається флуоресценцією.

Спектри флуоресценції хлорофілу, як і спектри його поглинання, є важливими фізичними показниками, що характеризують стан зелених пігментів і їх хімічну природу. Хлорофіли належать до класу порфіринів. Вони характеризуються інтенсивною флуоресценцією в червоній ділянці спектра, що вказує на їхню високу фотохімічну активність.

Проведення роботи

У чисту пробірку наливають спиртову витяжку хлорофілів (методика отримання витяжки пластидних пігментів наведена у попередній роботі). Її розглядають проти світла на рівні очей. Витяжка

хлорофілів матиме смарагдово-зелене забарвлення. Після цього цю саму пробірку з спиртовою витяжкою хлорофілів затемнюють чорним папером, поміщають біля електричної лампи і розглядають її з боку падаючого світла. Спостерігають рубіново-червоне забарвлення витяжки хлорофілів у відбитому світлі. Флуоресценцію хлорофілів можна спостерігати і в живому листку. Для цього беруть листок елодеї, кладуть на предметне скло, накривають покривним і мікроскопують. Для освітлення препарату синьо-фіолетовими променями між освітлювачем і дзеркалом розміщують синє скло або розчин $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O} + \text{NH}_4\text{OH}$, який слугує рідинним світлофільтром. Під впливом синьо-фіолетових променів спостерігають світіння червоним кольором хлоропластів у полі зору мікроскопа.

Можна досліджувати спектри флуоресценції на спеціально змонтованих на основі скляного спектрографа НСП-51 установках.

Робота 19. Розподіл пігментів (за Г. Краусом)

Мета: навчитися розподіляти пластидні пігменти за методом, що ґрунтується на їх різній розчинності в етиловому спирті та бензині.

Обладнання, матеріали, реактиви: лійки з поділками; пробірки; піпетки градуйовані місткістю 1-10 мл; спиртова витяжка пігментів зеленого листка; бензин; капельниці з водою.

Основні відомості. Метод розподілу пластидних пігментів розробив Г. Краус. Він ґрунтується на різній розчинності зелених і жовтих пігментів в етиловому спирті (полярний розчинник) і бензині (неполярний розчинник). Ці два розчинники не змішуються між собою при зливанні і утворюють два шари – верхній – бензиновий і нижній – спиртовий. У результаті цього відбувається розподіл компонентів суміші.

Проведення роботи

У пробірку наливають 2-3 мл спиртової витяжки пігментів, 3-4 мл бензину і 2-3 краплі води. Закривають пробірку корком, збовтують упродовж 1-2 хв, ставлять пробірку в штатив і спостерігають. В міру розшарування емульсії верхній бензиновий шар забарвлюватиметься в зелений колір, оскільки хлорофіли краще розчиняються в неполярному

розчиннику. У бензиновому шарі міститься також і каротин, але він маскується хлорофілами і його забарвлення так само, як і в зеленому листку не видно. Ксантофіл краще розчиняється у спирті, тому нижній спиртовий шар забарвлений у золотисто-жовтий колір. Від надлишку води нижній шар може помутніти, щоб усунути помутніння, необхідно додати декілька крапель спирту.

Щоб відокремити увесь ксантофіл, суміш з пробірки виливають у ділильну лійку з краником і жовтий шар рідини зливають у чисту пробірку. В кінці роботи роблять висновок про різну розчинність пігментів у спирті і бензині та про наявність у спиртовій витяжці жовтих пігментів. Розділені пігменти не виливають, а використовують у подальшій роботі.

Результати дослідження замальовують у робочому зошиті.

Робота 20. Омилення хлорофілу лугом

Мета: ознайомитися з хімічними властивостями хлорофілів, навчитися омилювати хлорофіли лугом.

Обладнання, матеріали, реактиви: фарфорові ступки; пробірки; лійки; скляні палички; ножиці; конічні колбочки; піпетки; спиртівки; скальпелі; скляний пісок; CaCO_3 ; етиловий спирт; бензин; 20 %-й розчин KOH ; 10 %-й розчин KCl , капельниці з дистильованою водою; фільтрувальний папір; листки рослин (свіжі або сухі), кольорові олівці.

Основні відомості. Хлорофіл за хімічною природою є естером, що складається із двохкарбонової хлорофілінової кислоти і залишків метилового та фітолового спиртів. Наявність у складі молекули великої кількості активних хімічних груп зумовлює значну реакційну здатність хлорофілів. Зокрема, при додаванні до хлорофілів лугу ефірні зв'язки омилюються, в результаті цього утворюється лужна сіль хлорофілінової кислоти (зберігає зелене забарвлення і оптичні властивості хлорофілу) і від його молекули відщепляються фітол і метанол.

Проведення роботи

У чисту пробірку наливають 2-3 мл спиртової витяжки пігментів зеленого листка, додають 1 мл 20 % -го розчину KOH або NaOH і 2-3 краплі води. Доливають у пробірку однаковий об'єм бензину,

закривають пробірку і сильно збовтують упродовж 1-2 хв. Після збовтування спостерігають, як суміш розподіляється на два шари: верхній (бензиновий) – жовтого кольору і нижній (спиртовий) – зеленого кольору. У верхньому жовтому шарі наявний каротин, а в нижньому зеленому – лужна сіль хлорофілінової кислоти (краще розчиняється у спирті) і ксантофіл. Хлорофіл можна омилити і в пробірці, в якій розподіляли пігменти за Г. Краусом. У пробірку з розділеними пігментами кладуть 2-3 грудочки (0,2-0,5 г) КОН або NaOH, закривають пробірку корком і енергійно збовтують до розчинення луку, відстоюють і спостерігають. Шари в пробірці розподіляються інакше, порівняно з пробіркою з розділеними пігментами за Г. Краусом. Верхній бензиновий шар буде жовтим від наявності в ньому каротину, а нижній спиртовий зелений від продуктів омилення хлорофілу.

Після роботи роблять зарисовки і відповідні висновки.

Робота 21. Добування феофітину і зворотнє відновлення металоорганічного зв'язку

Мета: ознайомитися з хімічними властивостями хлорофілів, навчитися добувати феофітин і відновлюватим металоорганічний зв'язок. Встановити, що зелене забарвлення хлорофілам надає атом металу, що входить до складу їх молекули.

Обладнання, матеріали, реактиви: фарфорові ступки; пробірки; лійки; скляні палички; ножиці; конічні колбочки; піпетки; спиртівки; скальпелі; скляний пісок; CaCO_3 ; етиловий спирт; капельниці з дистильованою водою; фільтрувальний папір; листки рослин (свіжі або сухі); пробіркотримачі; соляна кислота, ацетат цинку або ацетат міді.

Основні відомості. Молекула хлорофілу є тетрапіролом, тобто складається з чотирьох пірольних кілець, що з'єднані між собою метиновими місточками і утворюють велике порфіринове ядро з атомами нітрогену в середині і зв'язані ще з атомом магнію. П'яте циклопентанове кільце утворене α -кетопропіоновою кислотою. У складі молекули хлорофілу *a* є залишки фітолового та метилового спиртів, хлорофілу *b* – залишок фітолового спирту та альдегідна група. Наявність у порфіриновому ядрі кон'югованої по колу системи десяти

подвійних зв'язків і атома магнію зумовлюють характерне для хлорофілу зелене забарвлення. Атом магнію, що розміщений в центрі порфіринового ядра порівняно слабо утримується і за акуратного додавання до витяжки сильних кислот, легко заміщується двома протонами гідрогену, при цьому утворюється сполука оливково-бурого забарвлення, яку називають феофітином.

Більш сильні кислоти зумовлюють незворотне руйнування порфіринового ядра хлорофілу. Якщо на феофітин подіяти солями цинку або купруму, то два протони гідрогену в порфіриновому ядрі феофітину заміщаються відповідним металом, зворотно відновлюється металоорганічний зв'язок і відновлюється зелене забарвлення.

Отже, на основі експериментального дослідження можна зробити висновок, що зелене забарвлення хлорофілу обумовлене наявністю металоорганічного зв'язку в складі порфіринового ядра його молекули.

Проведення роботи

У дві пробірки наливають по 2-3 мл спиртової витяжки пластидних пігментів, додають 2-3 краплі 10 %-го розчину хлоридної кислоти і злегка збовтують. Під впливом хлоридної кислоти зелене забарвлення спиртової витяжки пластидних пігментів зникає і вона зафарбовується в оливково-бурий колір, в результаті утворення феофітину. Одну з пробірок з феофітином залишають як контроль, а в другу додають трохи (на кінці скальпеля) ацетату цинку або ацетату купруму і нагрівають на полум'ї спиртівки до кипіння. При цьому оливково-буре забарвлення розчину зникає і розчин зафарбовується у зелений колір у результаті відновлення металоорганічного зв'язку і утворення металозаміщеного хлорофілу.

У протоколах робіт зарисовують пробірки з феофітином і цинкпохідним хлорофілом та роблять висновок про те, що зелене забарвлення хлорофілу зумовлене наявністю в його молекулі металоорганічного зв'язку.

Робота 22. Визначення площі листкового апарату

Мета: ознайомитися з методами визначення площі листків і визначити площу листків, узятих в дослід.

Обладнання, матеріали, реактиви: 1-й спосіб: провощений папір, ножиці, лінійка, торсійна вага; 2-й спосіб: міліметровий папір; 3-й спосіб: планиметр; 4-й спосіб: лінійка.

Основні відомості. Листок у рослинному організмі виконує низку важливих функцій: транспірація (випаровування води рослиною), фотосинтез (синтез органічних речовин) та газообмін.

Листки більшості видів рослин мають дорзо-вентральну будову, є плоскими, мають велику листову поверхню. Це сприяє проходженню процесу фотосинтезу.

Продуктивність фітоценозів істотно залежить від розвитку листової поверхні рослин. На продуктивність культурних рослин негативно впливає як надмірний, так і слабкий розвиток поверхні листків. При дослідженні низки фізіологічних процесів, що протікають у рослинному організмі необхідно знати площу листової поверхні.

Низка фізіологічних показників розраховується на одиницю площі листа. Для цього потрібно вміти визначати площу досліджуваних листків.

Проведення роботи

Визначення площі листків може бути здійснено декількома способами.

1-й спосіб. З провощеного паперу (не поглинає вологу пальців руки дослідника), вирізають квадрат 5×5 площею 25 см^2 і зважують його на торсійних вагах, потім зрізають листок з рослини, кладуть на такий самий папір і змальовують його контури відточеним олівцем. Після цього вирізують контур листка і зважують на торсійній вазі. Знаючи масу відомої ($S = 25 \text{ см}^2$) паперової площі (P) і масу невідомої площі (P_1), знаходять площу листка S_1 :

$$\frac{S}{S_1} = \frac{P}{P_1}, \quad S_1 = \frac{P_1 S}{P}.$$

2-й спосіб. Площу листка визначають за допомогою міліметрового паперу. На ньому обводять контур листка олівцем і підраховують кількість квадратних міліметрів, що припали на площу листка. Зазначений метод має похибку, оскільки по краю листка за цілий міліметр беруть більше $1/2 \text{ мм}^2$, а менше $1/2 \text{ мм}^2$ в розрахунок не приймається.

3-й спосіб. Площа змальованого або надрукованого контуру листка вимірюється за допомогою спеціального приладу, який називається планіметр (рис. 1).

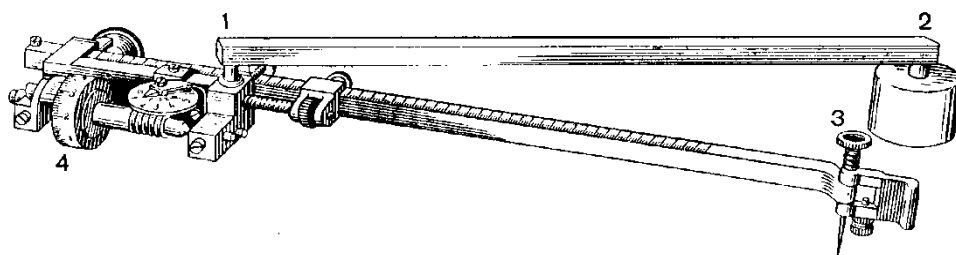


Рис. 1. Полярний планіметр «Геофізика»

1-2 – полюсний рычаг; 3 – обвідний штиль; 4 – колісце (найважливіша частина планіметра).

4-й спосіб. Площу листка визначають шляхом вимірювання його довжини і ширини з використанням перевідного коефіцієнта, який для листків злаків становить 0,67, а для культур з більш овальними листками – 0,74.

$$S = K \cdot a \cdot b$$

де S – площа листка; K – перевідний коефіцієнт;

a – ширина листка біля його основи; b – довжина листка.

Для визначення площі зазначеним методом не потрібно зрізувати листки з рослини. Довжину і ширину листка можна вимірювати на живій рослині і впродовж онтогенезу можна проводити моніторингові дослідження стосовно формування фотосинтетичної поверхні листків.

5-й спосіб.

Для визначення площі листків їх необхідно зрізати з рослини (без черешків) і зважити на електронній вазі. За допомогою свердла робити з середини та боків листків (не зачіпаючи середніх жилок) 20-30 висічок і їх зважити. Після цього визначити площу однієї висічки за формулою кола: $S = \pi R^2$, де R – радіус висічки, $\pi = 3,14$.

Площу всіх листків рослини (X) обчислюють за формулою:

$$X = \frac{S \cdot m_1}{m \cdot 10000} (m^2) , \text{ де}$$

m – маса висічок, г;

S – площа висічок, cm^2 ;

m_1 – маса листків дослідних рослин, г.

Робота 23. Визначення питомої поверхневої щільності листків рослин

Мета: встановити вплив видових особливостей кімнатних рослин на величину питомої поверхневої щільності листків. Визначити, як впливає вік листків на величину їх питомої поверхневої щільності.

Обладнання, матеріали, реактиви: коркові свердла, сушильна шафа, металічні або скляні бюкси, торсійні ваги.

Основні відомості. Важливим показником, який характеризує процеси росту, фотосинтезу та адаптивні можливості рослини щодо умов існування, особливо щодо водозабезпечення та сонячної радіації є питома поверхнева щільність листків.

Проведення роботи

Питому поверхневу щільність листків (ППЩЛ) визначають за співвідношенням сухої маси листка до його площі (мг сухої речовини/см² або г сухої речовини/дм²). За допомогою трубкового свердла (діаметром 1,5-2 см) з середньої частини певного листка (без великих жилок) вирізають висічку (не менше трьох висічок з п'яти рослин). Кожну висічку висушують у сушильній шафі за температури 105 °С (за вищої температури згорають органічні речовини) до постійної маси і зважують на торсійних вагах. Потім вимірюють діаметр свердла (d) і визначають площу висічки листка за формулою:

$$S = \pi r^2,$$

де S – площа висічки листка (см²); π – 3,14; r – радіус висічки листка ($r = d : 2$, см).

ППЩЛ визначають за формулою: $ППЩЛ = M/S$,

де S – площа висічки листка (см²),

M – маса сухої висічки (мг).

Під час інтенсивних ростових процесів ППЩЛ може зменшуватись, збільшуватись під час старіння, водного дефіциту, внаслідок накопичення органічних і мінеральних речовин у листку. Результати експериментального дослідження записують у таблицю.

Динаміка формування ППЩЛ залежно від умов вирощування

№ листка	Вид	Маса висічок, мг	Площа висічок, см ²	Величина ППЩЛ	Примітка
4.					
8.					
10					

Робота 24. Визначення фотосинтезу за кількістю накопиченої сухої речовини (метод листкових половинок)

Мета: визначити інтенсивність фотосинтезу різних сільськогосподарських культур, які вирощуються у вегетаційних умовах.

Обладнання, матеріали, реактиви: торсійні ваги; сушильна шафа; ексікатор; чашка Петрі; бюкс; коркові свердла 5-10 мм; пінцети; кімнатні рослини або з ділянки.

Основні відомості. Метод листкових половинок запропонував німецький учений Ю. Сакс в 1883 р. Це кількісний метод дослідження інтенсивності фотосинтезу. Ю. Сакс пропонував для дослідження використовувати половинки листка, відповідно, метод отримав свою назву. Сьогодні беруть не половинки листка, а висічки з них.

Методом Ю. Сакса визначають чисту продуктивність фотосинтезу, яку розраховують шляхом співвідношення накопиченої сухої речовини на одиницю площі листка за годину або добу. Для отримання більш точних результатів необхідно паралельно в додаткових варіантах (у темряві) визначати масу сухої речовини, яка витрачається на процес дихання і відтік асимілятів. Залежно від дії антропогенних факторів чи чинників навколишнього середовища можна вивчити денну продуктивність рослин.

Проведення роботи

Для визначення чистої продуктивності фотосинтезу доцільно використовувати рослини з великими симетричними листками (капуста, огірки, кабачки, гарбузи, кукурудза та ін.). Для аналізу використовують два супротивних листки. Одну половинку листка без центральної жилки зрізають ранком, а другу з центральною жилкою залишають на рослині для проходження процесу фотосинтезу. Якщо дослідження проводять на

кімнатній рослині, то її виставляють на світло упродовж 6-8 год. повного. Для насичення листка водою відрізану половинку кладуть у кристалізатор на 30 хв. Після цього з цієї пластинки корковим свердлом виготовляють висічки і поміщають їх у попередньо зважений металічний бюкс. Бюкс ставлять у термостат на 2 год для висушування висічок за температури 70 °С. Через 2 год. бюкси охолоджують в ексикаторі, зважують разом з висічками і знову поміщають у термостат на 30 хв. Бюкси висушують до постійної маси. Розділивши масу сухих висічок на їх площу, отримують кількість сухої речовини на одиницю площі листка. У літній період через 4-6 год., а у зимовий через 21 год відрізають другу половинку листка і проводять ті самі операції, що й з першою. Збільшення маси в тих половинках листків, які залишались на світлі, свідчить про інтенсивність фотосинтезу. Проте ці дані не точні і потребують внесення поправок, оскільки тут не враховано витрату сухої речовини, яка використовується на процеси дихання і відтік. Щоб отримати точніші дані, треба зрізати половинку листової пластинки без центральної жилки з супротивного листка тієї самої рослини, а на другу половинку з центральною жилкою накласти ковпак з чорного паперу, вкритого зверху білим. Для визначення втрати сухої речовини на одиницю площі за одиницю часу (у літній період за 1 год., у зимовий – за добу), яка використовується на процеси дихання та відтік з першою і другою половинками цього листка проводять ті самі досліді, що й з попередніми.

Площу фотосинтетичної поверхні обчислюють за формулою:

$$S = \pi r^2 n,$$

де S-площа фотосинтетичної поверхні, см²,

$\pi=3,14$, r – радіус висічки, см,

n – кількість висічок, шт.

Інтенсивність фотосинтезу обчислюють за такою формулою:

$$I_{\phi} = 10000 (\text{приріст сухої речовини} + \text{втрата сухої речовини}) / St$$

де I_{ϕ} – інтенсивність фотосинтезу, г/м²-год., S – площа фотосинтетичної поверхні, см², t – тривалість досліді, год.; приріст і втрата сухої речовини визначається в г; 10000 – коефіцієнт переведення см² у м²

Результати дослідження записують у таблицю.

**Результати дослідження інтенсивності фотосинтезу деяких видів
кімнатних або культурних рослин**

№ за/ п	Об'єкт	Маса сухої речовини, г		Приріст сухої речов., г	Маса сухої речовини, г		Втрата сухої речов., г	t, год	S, см ²	I _ф , г/м ² год
1.										
2.										

Робота 25. Утворення крохмалю у фотосинтезуючому листку

Мета: встановити вплив світла на утворення вуглеводів під час фотосинтезу. Визначити тривалість процесу обезкрохмалення листків у різних видів кімнатних або культурних рослин.

Обладнання, матеріали, реактиви: водяна баня; ножиці; спиртівка; пінцети; чашки Петрі; стакани; гідролізний спирт; розчин йоду в йодиді калію; чорний папір; скріпки; рослини, які ростуть у кімнатних, вегетаційних чи польових умовах.

Основні відомості. Фотосинтез – фізіологічний процес трансформації енергії світла в енергію хімічних зв'язків органічних речовин, що відбувається за участю хлорофілу, який слугує оптичним сенсibilізатором. Під час фотосинтезу утворюються органічні речовини з неорганічних. Встановлено, що 30-50 % асимілятів, які утворюються в процесі фотосинтезу, відкладаються у формі крохмалю:



Проведення роботи

Для обезкрохмалення листків на них накладають мішечки з чорного паперу, який зверху покривають білим. Через 24, 48, 72 год. вирізають з чорного паперу або фольги по дві однакових фігурки певної форми так, щоб одна була дзеркальним відображенням іншої. Заготовлені фігурки накладають одну проти одної зверху й знизу на листки і скріплюють їх скріпками в кількох місцях.

Листки з фігурками зрізують по закінченні експозицій, фігурки знімають, а листочки вбивають шляхом кип'ятіння на водяній бані. Після цього листочки кип'ятять у спирті до повного їх знебарвлення, а потім занурюють їх на кілька хвилин у склянку з 1%-м розчином КОН. Акуратно розправляють листки в кристалізаторах або чашках Петрі і занурюють їх у розчин йоду в йодистому калії. Через 5-10 хв та частина листка, де було прикріплено фігурки, стане безбарвною тому, що фігурки не пропускали сонячних променів і крохмаль у цьому місці не утворювався. Інші ділянки листка, які були освітленими і в них відбувався фотосинтез забарвляться у синювато-чорний колір від наявності крохмалю, який утворився в процесі фотосинтезу, а за впливу розчину йоду в йодистому калії забарвився в синій колір.

Замалювати контури листка з утвореними крохмальними фігурами.

ТЕМА: ДИХАННЯ РОСЛИН

Робота 26. Виявлення поглинання кисню під час дихання проростаючого насіння

Мета: навчитися монтувати прилад і виявляти поглинання кисню під час дихання проростаючого насіння культурних рослин.

Обладнання, матеріали, реактиви: штативи; скляні банки (можна використати колби Бунзена); гумові корки; скляні й гумові трубки; пробірки; пластилін; КОН або NaOH; фуксин або метиленовий синій; проросле насіння гороху, пшениці або інших культур.

Основні відомості. Є два типи дихання: анаеробне, без участі вільного кисню, і аеробне, з безпосередньою участю молекулярного кисню. Анаеробне дихання характерне для багатьох видів бактерій, водоростей, грибів. Його ще називають бродінням. Для вищих зелених рослин, як правило, характерний аеробний тип дихання. Під час дихання рослини поглинають кисень повітря, який використовується на внутрішньоклітинне окислення органічних речовин, і, одночасно, виділяють вуглекислий газ.

Отже, цей процес пов'язаний з обміном газів внутрішніх частин рослини з навколишнім середовищем. Щоб переконати в цьому учнів, проводять попередньо підготовлений простий дослід.

Проведення роботи

Дві скляні банки місткістю 0,5 л (або колби Бунзена) міцно закривають гумовим корком, в який вставлено зігнуту скляну трубку, більше коліно якої 30 см завдовжки. У колбі Бунзена на відросток надівають гумову і скляну трубочки. Прилад монтують так, щоб, кінці трубочок були занурені в склянку з водою, забарвленою будь-яким барвником. Перед закриванням колб у них вставляють пробірки з КОН. Потім в одну з банок насипають 1/3 її об'єму пророслого насіння (дослід), а другу залишають пустою (контроль). По закінченні монтування приладу стежать за підняттям рідини в трубках. У трубці, що з'єднується з контрольною банкою, рідина піднімається дуже мало; у трубці ж, яка з'єднана з дослідною банкою, рідина піднімається набагато вище.

Рідина в трубочках піднімається завдяки тому, що розчин лугу вбирає CO_2 і тиск у банках зменшується. Чим більше CO_2 зв'яжеться КОН, тим вище підніметься рідина в трубці. У контрольній банці після того, як весь CO_2 буде поглинутий лугом, рідина перестане підніматися, в той час, коли в дослідній банці рідина в трубці весь час поступово піднімається. Це пояснюється інтенсивним диханням пророслого насіння.

У процесі дихання насіння поглинає O_2 і виділяє CO_2 . Розчин КОН вбирає CO_2 , що виділяється насінням, але тиск у банці весь час знижується у зв'язку з поглинанням насінням кисню. Цей процес триває доти, поки весь кисень не буде використаний для дихання насіння. Якщо трубки градуйовані (їх можна виготовити з піпеток), то за різницею стовпчиків рідини в трубках досліду і контролю роблять висновок про кількість кисню, поглинутого насінням під час дихання. Для контролю використовують вбите і сухе насіння. Після проведення досліду зарисовують змонтовані прилади в робочих зошитах і роблять відповідні висновки.

Робота 27. Виявлення виділення CO_2 під час дихання проростаючого насіння

Мета: навчитися монтувати прилад і виявляти виділення вуглекислого газу під час дихання проростаючого насіння культурних рослин.

Обладнання, матеріали, реактиви: бутель місткістю 5 – 10 л; скляні банки; скляні й гумові трубочки; лійки; пробірки; проросле насіння пшениці, жита, ячменю та інших культур; баритова або вапняна вода; КОН.

Основні відомості. У процесі дихання рослин виділяються вуглекислий газ, вода і значна кількість енергії. Виділення вуглекислого газу і тепла під час дихання рослин найкраще демонструвати на пророслому насінні. Проростаюче насіння дуже енергійно дихає, і це дає змогу виявити вуглекислоту, яка виділяється під час цього процесу на дуже простих дослідах.

Проведення роботи

За 4 – 5 днів до проведення уроку пророщують насіння пшениці,

жита, гороху або іншої рослини. Напередодні ставлять у тепле темне місце. Під час уроку беруть порожню банку і банку з пророслим насінням, запалюють скалку. Запалену скалку спочатку опускають у порожню банку, де вона продовжує добре горіти, тому що в повітрі є кисень. Після цього відкривають банку з пророслим насінням і опускають туди запалену скалку, вона відразу погасне. Учитель пояснює учням це явище тим, що під час дихання пророслого насіння виділяється вуглекислий газ, який не підтримує горіння. Виділення вуглекислого газу під час дихання проростаючого насіння можна демонструвати на уроці й іншим способом. Напередодні проведення уроку проросле насіння вміщують у банку і закривають її гумовим корком з вставленими у нього лійкою і газовідвідною трубочкою і залишають у теплому місці на кілька годин. Під час проведення заняття кінець газовідвідної трубочки неглибоко опускають у пробірку з баритовою або вапняною водою. Повітря з банки пропускають крізь баритову воду, при цьому утворюється вуглекислий барій, який випадає у вигляді білого осаду, баритова вода стає каламутною.

Щоб довести, що в процесі дихання рослин виділяється CO_2 , часто на уроках демонструють прилад в дії. З цією метою беруть три банки, в одну наливають розчин лугу, в другу – насипають пророслого насіння, в третю – наливають розчин баритової або вапняної води. Банки щільно закривають гумовими корками, в які вставлені по дві зігнуті під прямим кутом скляні трубки – одна довша, а друга – коротша. Банки з'єднують між собою гумовими трубками. Щоб створити безперервний рух повітря крізь прилад, коротшу трубку третьої банки з'єднують з водоструминним насосом або аспіратором. Повітря, надходячи із навколишнього середовища в першу банку і проходячи крізь розчин лугу, очищається від CO_2 повітря і потрапляє у банку з пророслим насінням. Там воно насичується вуглекислим газом, який утворився під час дихання насіння, і надходить у банку з баритовою водою. Вода, реагуючи з вуглекислим газом ($\text{Ba}(\text{OH})_2 + \text{CO}_2 \rightarrow \text{BaCO}_3 + \text{H}_2\text{O}$), утворює вуглекислий барій, що, випадаючи в осад, робить її каламутною. По закінченні роботи зарисовують прилади і роблять відповідні висновки.

ТЕМА. МІНЕРАЛЬНЕ ЖИВЛЕННЯ РОСЛИН

Робота 28. Виявлення нітратів в рослинах

Мета: навчитися виявляти нітрати у різних органах рослин за допомогою розчину дифеніламіну у сульфатній кислоті та оцінювати їх вміст за 5-ти бальною шкалою.

Обладнання, об'єкти, реактиви: фарфорові чашки; ножиці; склянки з водою; скляні палички; розчин дифеніламіну в концентрованій сульфатній кислоті (0,1 г на 10 мл H_2SO_4); фільтрувальний папір; дослідні рослини.

Основні відомості. Нітроген є важливим біогенним елементом рослини і зважаючи на його фізіологічне значення можна сказати, що без нього не може існувати живий організм. Він входить до складу амінокислот, білкових речовин, нуклеїнових кислот, ліпоїдів, хлорофілу, АТФ, ензимів та інших важливих органічних сполук. Рослина поглинає кореневою системою нітроген з ґрунту у вигляді катіону амонію та аніону нітратних сполук. Поглинутий нітроген нітратів відновлюється в клітинах коренів до аміаку, який, взаємодіє з кетокислотами, у результаті реакцій прямого амінування утворює амінокислоти, що використовуються на біосинтез білків організму рослин. Певна кількість нітратних сполук, які не відновилися в клітинах кореня, транспортується з водною течією висхідним шляхом від кореня по судинах ксилеми стебла до листків. У листках у хлоропластах відбувається процес фотохімічного відновлення нітратів до утворення аміаку, який використовується на синтез амінокислот шляхом реакцій прямого амінування кетокислот (пірувату, аспартату, глутамату тощо).

Нітрати виявляють у вегетативних та генеративних органах рослини за допомогою розчину дифеніламіну в концентрованій сульфатній кислоті. За наявності нітратів спостерігають утворення синього забарвлення.

Проведення роботи

У білі фарфорові чашечки або ступки кладуть шматочки черешка або листової пластинки різних видів рослин і розтирають їх склянною паличкою або товкачиком. Потім рослинну масу обливають розчином

дифеніламіну в концентрованій сульфатній кислоті. За наявності нітратів у досліджуваних органах рослини спостерігають появу синього забарвлення. Однак через 1 – 2 хв забарвлення змінюється, що пов'язано із взаємодією рослинної маси з сульфатною кислотою. Під час виконання цієї роботи доцільно визначити вплив освітлення на вміст нітратів в різних органах рослини, в яких вегетативних органах рослини перетворюються нітрати, як у бобових (характерний відхилений тип азотного живлення) і злакових рослин, що вирощуються в однакових умовах, відновлюються нітрати та ін. Результати дослідів оцінюють за п'ятибальною системою.

За результатами дослідження записують висновок.

Робота 29. Закладання дослідів по вивченню фізіологічної ролі елементів мінерального живлення в умовах водних культур

Мета: встановити, як впливає відсутність основних макроелементів (N, P, K) на ріст, розвиток та деякі фізіологічні показники бобових рослин.

Обладнання, матеріали, реактиви: літрові банки, пластмасові кришки, свердла, молоток, чорний папір, білий папір, скріпки, ваги і різноважки, торсійні ваги, піпетки, скляні палички, мірні циліндри на 100 і 1000 м, скляні трубки, гумова груша, лакмусовий папір, солі $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, KCl , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, KH_2PO_4 , FeCl_3 , CaSO_4 , KNO_3 , $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, H_3BO_3 , MnSO_4 , CuSO_4 , ZnSO_4 , HCl (0,1 моль/л), KOH (0,1 моль/л), проростки кормових бобів, квасолі звичайної, гороху посівного.

Основні відомості. Мінеральне або кореневе живлення рослин можна досліджувати польовими, вегетаційними і лабораторними методами. У лабораторних умовах, наприклад, можна визначити об'єм кореневої системи, мікрохімічний аналіз золи, вміст нітратів у вегетативних та генеративних органах рослин, різних форм нітрогену, фосфору, калію, кальцію, магнію і т.д.

Польовий метод є найбільш наближеним до природніх умов, оскільки включає дослідження, які проводять у відкритому ґрунті на спеціально виділеній ділянці. Основним завданням його є встановлення відмінностей між варіантами польового досліду, кількісна оцінка впливу факторів життя, умов або прийомів вирощування на продуктивність рослин і якість урожаю.

Вегетаційний метод дослідження передбачає вирощування рослин у спеціальних вегетаційних посудинах в вегетаційних будиночках, теплицях, оранжереях, кліматичних камерах і інших спорудах у контрольованих умовах кореневого живлення і забезпечення рослин водою. Розрізняють кілька модифікацій вегетаційного методу залежно від субстрату, на якому вирощують рослини: ґрунтові культури – вирощування рослин у посудинах з ґрунтом, піщані культури – вирощування рослин у посудинах з піском, водні культури – вирощування рослин у посудинах з поживними розчинами, гравійні культури – вирощування рослин у посудинах з поживними розчинами на гравії, аеропоніку – вирощування рослин на розпиленому поживному розчині тощо.

У вегетаційних умовах виявляють фізіологічне значення макро-, мікроелементів у живленні рослин, їхні потреби в окремі фази вегетації, реакції рослин на абіотичні фактори середовища, порушення процесів життєдіяльності, які виникають за відсутності або дефіциті того чи іншого елемента, ступінь родючості ґрунтів, передбачає проведення дослідження у спеціальних вегетаційних будиночках. Приміщення, в яких регулюються всі фактори росту і розвитку рослин, називають станціями штучного клімату, або фітотронами. Вирощування рослин без ґрунту, методом водних або гравійних культур називають гідропонікою.

Для дослідження кореневого живлення методом водних і піщаних культур, всі необхідні мінеральні елементи рослини отримують у вигляді штучних сумішей. Для закладання дослідів використовують хімічно чисті солі, дистильовану воду і промитий, прожарений кварцовий пісок, спеціальні чисті посудини.

Вперше метод водних культур запропонували німецькі дослідники І. Кноп і Ю. Сакс. Рослини вирощують на спеціальних живильних сумішах, що містять у своєму складі в достатній кількості і в певному співвідношенні всі необхідні елементи для їх нормальної життєдіяльності. Поживні розчини, що використовуються для культивування рослин в умовах водних культур є фізіологічно зрівноваженим. Нормальний поживний розчин у своєму складі повинен містити сім таких елементів: P, N, K, Ca, Mg, Fe, S,. Варто зазначити, що різні види рослин потребують упродовж вегетації різну кількість поживних елементів, тому універсального поживного розчину, який би

за хімічним складом був оптимальним для всіх видів рослин, немає і бути не може. Тому необхідно виготовити розчин такого складу, який максимально може відповідати вимогам конкретної рослини.

Основні вимоги до нормального поживного розчину:

1. У складі живильного розчину повинні бути всі необхідні для рослин поживні елементи.

2. Окремі складові компоненти розчину повинні бути у розчинній формі, доступній для рослини.

3. Протягом усього періоду вегетації реакція середовища (рН) має бути оптимальною для рослин.

Для більшості культурних рослин оптимальна реакція середовища у межах рН5,5-рН7,8.

Вченими, на основі експериментальних досліджень, розроблено рецепти універсальних живильних сумішей для культивування вищих рослин і поживні середовища для вирощування окремих видів. Дослідники рекомендують різні розчини для культивування рослин. Найчастіше використовуються у навчальних лабораторіях суміші І. Кнопа, Г. Гельрігеля, Д. М. Прянишникова, В. А. Чеснокова, Г. Моліша, Мітчерліха та ін.

Суміш Білоусова	
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	1,11 г/л
KH_2PO_4	0,36 г/л
K_2HPO_4	0,43 г/л
MgSO_4	0,054 г/л
NaCl	0,10 г/л
Fe_2Cl_6	0,01 г/л
Суміш Моліша	
$(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$	0,80 г/л
KH_2PO_4	0,40 г/л
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,002 г/л
$\text{CaSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,40 г/л
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,40 г/л
Суміш Мітчерліха	
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	0,80 г/л
KNO_3	0,30 г/л
NH_4NO_3	0,08 г/л

NaCl	0,20 г/л
K H ₂ PO ₄	0,17 г/л
MgSO ₄ • 7H ₂ O	0,20 г/л
Суміші Гельрігеля	
Ca (NO ₃) ₂	0,492 г/л
KH ₂ PO ₄	0,136 г/л
MgSO ₄ • 7H ₂ O	0,123 г/л
KCl	0,075 г/л
FeCl ₃ • 6H ₂ O	0,025 г/л

Проведення роботи

1. Виготовлення поживних розчинів для вирощування рослин у водних культурах.

Метод водних культур передбачає вирощування рослин на певних живильних розчинах, які містять поживні елементи з різними комбінаціями мінеральних речовин для забезпечення нормального росту і розвитку рослин. Різні вчені рекомендують неоднакові розчини для вирощування рослин.

Найпростішим є поживний розчин І. Кнопа, який складається з таких солей:

Кальцій азотнокислий Ca(NO ₃) ₂	1,000 г
Калій хлористий KCl	0,125 г
Магній сірчаноокислий MgSO ₄ *7H ₂ O	0,250 г
Калій фосфорнокислий KH ₂ PO ₄	0,250 г
Розчин хлористого заліза FeCl ₃	кілька крапель

Зазначена у таблиці кількість мінеральних солей розчиняється в дистильованій воді, доводячи об'єм до 1 л. До живильного розчину додають сліди мікроелементів В, Mn, Mo, Zn (по 5 крапель 1%-го розчину H₃BO₃, MnSO₄, (NH₄)₂MoO₄, ZnSO₄). Недоліком вищезазначеного розчину є те, що в ньому дуже швидко встановлюється лужна реакція, яка шкідливо позначається на рослинах.

Академік Д. М. Прянишников запропонував поживний розчин, до складу якого входить нітроген у складі амонію азотнокислого (NH_4NO_3), сіль, що фізіологічно майже нейтральна.

NH_4NO_3	0,250 г
$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,172 г
KCl	0,150 г
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,060 г
$\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,334 г
FeCl_3	0,025 г
Сліди мікроелементів В, Мп, Мо, Zn	
H_2O дист.	1000 мл

У зазначеному розчині рН середовища протягом вегетації майже не змінюється, що має вагоме значення при культивуванні рослин.

При закладанні досліду з водними культурами варто виготовити маточні розчини. Їх виготовляють так, щоб у певному об'ємі розчину, наприклад, в 10 мл була необхідна кількість тієї або іншої солі на 1 л поживної суміші для розчину Кнопа.

Наприклад: в 1 л розчину повинно бути 1 г $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, отже, в 10 мл концентрованого вихідного розчину також має бути 1г $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$. Розраховуємо за пропорцією кількість солі, яку необхідно взяти для виготовлення 1 л вихідного розчину.

в 10 мл має бути 1,0 г $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$

а в 1000 мл - x

Звідси: $x =$

Отже, для приготування вихідного розчину $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ для цього складу живильної суміші необхідно розчинити 100 г зазначеної солі в 1 л дистильованої води.

Аналогічним способом обчислюємо необхідну кількість KH_2PO_4 (25 г), KCl (12,5 г), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (25 г), що їх треба розчинити в 1 літрі дистильованої води.

Усі вихідні маточні розчини зберігають у закритих посудинах, щоб вони не випаровувались, оскільки підвищуватиметься концентрація солей.

2. Монтування посуду для водних культур.

Для вирощування рослин у водних культурах найчастіше використовують скляний посуд, в якому добре проводити

спостереження за ростом і розвитком кореневої системи рослин. Розмір вегетаційної посудини залежить від величини кореневої системи досліджуваного виду рослин. Для культур з малою за розмірами кореневою системою рекомендовано посудини місткістю 1-1,5 л.

Веgetаційні посудини з живильними розчинами, в яких культивують рослини повинні добре закриватись. Для цього можна виготовляти кришки з корка або дерева, використовувати пластмасові кришки. В них за допомогою свердла роблять три отвори: в центрі кришки – для скляної трубки, через яку проводиться аерація розчину шляхом продування повітря, два по боках – для посадки рослин. Коркові та дерев'яні кришки краще робити з висувним сектором для зручного пересаджування рослин. Їх перед закладанням дослідів парафінують.

Для того, щоб скляний посуд не пропускав світла, то вегетаційні посудини обгортають чорним папером, а щоб живильний розчин не перегрівався, зверху чорної обгортки накладають ще одну – з білого паперу. Обидві обгортки необхідно добре прикріпити до посудини (щоб не проникало світло) і разом з тим обгортки мають легко зніматись. На білому папері обгортки виготовляють етикетку розміром 10x15 см, на якій необхідно вказати назву варіанту, повторність, дату закладання і прізвище слухачів, що проводять експеримент.

Зразок:

Варіант № 1 Повний поживний розчин Кнопа (контроль) повт I слухачі секції біології .05. 2023р.
--

3. Вирощування розсади для культивування рослин на поживних розчинах.

Для закладання дослідів необхідно підготувати одноманітну розсаду. Відбирають здорове на вигляд однорідне насіння і пророщують його у чашах Петрі на фільтрувальному папері до утворення корінців довжиною 1,5-2 см. Насіння можна пророщувати і в рулонній культурі. Для цього беруть довгу стрічку фільтрувального паперу (можна

використати туалетний папір), розкладають вздовж по ній насіння, загортають у рулон, зав'язують нитками або гумовим кільцем і занурюють рулон у посудину з водою на 2-3 см, так щоб вода не вкривала насіння. Проростки, з довжиною коренів 2-3 см можна висаджувати на поживний розчин. Проростки висаджують в два отвори так, щоб насінина залишалась на поверхні, а корінці були занурені в розчин. Для досліду необхідно вибирати однакові найсильніші за зовнішнім виглядом наземної частини та кореневої системи рослини.

4. Закладання дослідів для вирощування рослин на повних поживних розчинах і розчинах з виключенням азоту, фосфору і калію.

Складають схему досліду і після цього виготовляють живильні розчини. Щоб дослідити вплив будь-якого елемента на ріст та розвиток рослин необхідно культивувати рослини на неповному поживному розчині. Для цього готують спеціальні розчини, з яких виключають той або інший елемент. При цьому елемент, що виключено, замінюють іншим, так щоб концентрація розчину залишилась без змін. Якщо, наприклад, треба приготувати поживну суміш без нітрогену, міркують так: до складу розчину Кнопа нітроген входить у вигляді солі $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$. При виключенні його з розчину зв'язаний з NO_3^- катіон Ca^{2+} повинен зберегтися в тій самій кількості. $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ можна замінити на $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Для цього визначають кількість кальцію в солі $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$. Грам-молекула кальцій нітрату – 164,09 містить Ca – 40,04 а в 1 г $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ – міститься Ca X г.

$$\begin{array}{rcl} \text{Складаємо пропорцію:} & \text{Ca}(\text{NO}_3)_2 & - \text{Ca} \\ & 164,09 & - 40,04 \\ & 1,00 & - X \\ & \text{Звідси } X = 0,244(\text{г}) \end{array}$$

Далі визначають, яку кількість $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ треба внести до поживної суміші, щоб зберегти таку ж кількість кальцію, яка міститься в 1 г $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$. Грам-молекула $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ – 172,17 містить Ca - 40,04 г.

$$\begin{array}{rcl} \text{Складаємо пропорцію:} & \text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} & - \text{Ca} \\ & 172,17 & - 40,04 \\ & X & - 0,244 \\ & \text{Звідси } X = 1,048(\text{г}) \end{array}$$

Таким чином, 1,00 г $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ замінюємо на 1,048 г $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

Поживний розчин Кнопа з виключенням нітрогену	
$\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1,048 г
KCl	0,125 г
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,250 г
KH_2PO_4	0,250 г
FeCl_3	сліди
B, Mn, Mo, Zn	сліди

Загальний об'єм водного розчину повинен дорівнювати 1 л.

Щоб приготувати поживний розчин Кнопа з виключенням калію міркують так: калій до складу даного розчину входить у вигляді двох солей – KH_2PO_4 та KCl. Першу сіль можна замінити $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, а другу – NaCl. Треба обчислити, скільки необхідно взяти $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, щоб кількість фосфору була така сама, як в 0,25 г KH_2PO_4 .

Складаємо пропорцію: $\text{KH}_2\text{PO}_4 - \text{P}$

$$136,1 - 30,98$$

$$0,25 - X$$

$$\text{Звідси: } X = 0,057 \text{ (г)}$$

Далі обчислюємо, яку кількість грамів $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ треба взяти, щоб у ній було 0,057 г фосфору. Знову складаємо пропорцію:

$$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O} - \text{P}$$

$$358,18 - 30,98$$

$$X - 0,057$$

$$\text{Звідси: } X = 0,659 \text{ (г)}$$

Отже, для заміни в даному розчині солі KH_2PO_4 на сіль $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ останньої треба брати 0,659 г на 1 л.

Так само обчислюємо, яку кількість грамів NaCl треба взяти для того, щоб замінити 0,125 г KCl у розчині. Обчислення проводимо за хлором.

Складаємо пропорцію: KCl – Cl

$$74,56 - 35,46$$

$$0,125 - X$$

$$\text{Звідси: } X = 0,059 \text{ (г)}$$

$$\text{Далі: NaCl} - \text{Cl}$$

$$58,46 - 35,46$$

$$X - 0,059$$

$$\text{Звідси: } X = 0,097 \text{ (г)}$$

Поживний розчин Кнопа з виключенням калію	
Ca (NO ₃) ₂	1,000 г
Na ₂ HPO ₄ *12H ₂ O	0,659 г
NaCl	0,097 г
MgSO ₄ • 7H ₂ O	0,250 г
FeCl ₃	сліди
B, Mn, Mo, Zn	сліди

Об'єм розчину доводимо дистильованою водою до 1 л

Щоб приготувати поживний розчин Кнопа без фосфору, треба КН₂РO₄ замінити на КСl:

$$\begin{array}{rcl} \text{КН}_2\text{РO}_4 & - & \text{К} \\ 136,1 & - & 39,1 \\ 0,25 & - & \text{X} \end{array}$$

Отже, щоб замінити 0,25 г КН₂РO₄, треба взяти 0,137 г КСl.

Поживний розчин Кнопа з виключенням фосфору	
Ca (NO ₃) ₂	1,000 г
КСl	0,262 г
MgSO ₄ •	0,250 г
FeCl ₃	сліди
B, Mn, Mo,	сліди

Цю кількість солей розчиняють в 1 л дистильованої води.

Аналогічні розрахунки можна зробити і для інших елементів.

Вивчаючи вплив неповного живильного розчину на ріст і розвиток рослин, необхідно обов'язково ставити кілька (3 і більше) повторних дослідів. Для контролю виготовляють повний поживний розчин. Після закінчення підрахунків потрібну кількість солей відважують на аптечних і торсійних терезах, розчиняють у дистильованій воді кожну сіль зокрема, щоб уникнути утворення осаду, розливають у приготовлений посуд. Універсальним індикатором або лакмусовим папірцем визначають рН розчинів. Для більшості культур оптимальна рН середовища 5,5-6,5.

У змонтовані і заповнені поживними розчинами банки садять заздалегідь вирощену розсаду. В кожну посудину треба садити однакові

рослини. Посудини з водними культурами ставлять на постійне місце, систематично доглядають і спостерігають за ними аж до закінчення і ліквідації досліду.

5. Догляд, фенологічні спостереження, проведення фізіологічних аналізів.

За рослинами, що вирощуються в умовах водних культур ведуть систематичний догляд. Регулярно (1 раз на тиждень) замінюють розчин, оскільки більшість поживних розчинів з часом досить помітно змінює величину рН, а це шкідливо позначається на рослинах. Поживний розчин за допомогою гумової груші необхідно щодня аерувати протягом 3-5 хв через скляну трубочку, вставлену в кришку посудини. Аерація розчину необхідна для нормального росту і розвитку кореневої системи. Раз на тиждень перевіряють рН середовища. При його зміні підкислюють слабким розчином соляної чи лимонної кислоти, або додають натрію гідроксиду. Листки миють раз на тиждень. При появі на листках білих плям (ознаки хлорозу) в розчин додають декілька крапель 1 %-го FeCl_3 .

Під час досліду необхідно до вегетаційної посудини доливати дистильовану воду щоб рівень рідини в посудині весь час був однаковий. Між рівнем розчину в посудині і кришкою обов'язково повинен бути простір, не заповнений водою (близько 1 см).

По мірі росту рослин їх підв'язують до дерев'яних палок, або металічних каркасів, пофарбованих у білий колір.

За дослідами проводять фенологічні спостереження за схемою, представленою в таблиці.

Результати фенологічних спостережень за рослинами кормових бобів, вирощених в умовах водних культур

№ за /п	Варіант	Повт ор ність	Дата закла- дання досліду	Поява 3 справж- нього листка	Фаза бутоні- зації	Фаза цвітін- ня	Фазаутв орення плодів	Прим ітка
1.	Повний поживний розчин Кнопа (контроль)	1 2 3						
2.	Поживний розчин Кнопа	1 2						

	з виключенням азоту	3						
3.	Поживний розчин Кнопа з виключенням калію	1 2 3						
4.	Поживний розчин Кнопа з виключенням фосфору	1 2 3						

Одночасно з проведенням фенологічних спостережень проводять заплановані фізіологічні аналізи. Під час фенологічних спостережень і перед ліквідацією рослин дослідів варто зробити фотографії, а під час ліквідації дослідів рослини різних варіантів ретельно охарактеризувати. Результати дослідів записати у таблицю .

На основі даних таблиць зробити висновок про фізіологічне значення N, P, K.

Результати ліквідації рослин кормових бобів, вирощених в умовах водних культур

№ за/п	Варіант	Повторність	Дата ліквідації дослідів	Висота стебла, см	Кількість листків, шт	Довжина кореневої системи, см	Об'єм кореневої системи, см ³	Вага пагона, г		Вага кореня, г		Прігтка
								сир	суха	сир	суха	
1.	Повний поживний розчин Кнопа (контроль)											
	Середнє значення											
2.	Поживний розчин Кнопа з виключенням											

	азоту											
	Середнє значення											
3.	Поживний розчин Кнопа з виключенням калію											
	Середнє значення											
4.	Поживний розчин Кнопа з виключенням фосфору											
	Середнє значення											

Робота 30. Визначення об'єму кореневої системи рослин (за Д. А. Сабініним і І. І. Колосовим)

Мета: визначити об'єми корневих систем рослин, вирощених в умовах водних культур.

Обладнання, матеріали, реактиви: дистильована вода, мірні циліндри, об'ємомір, кристалізатор, штатив, бюретка, фільтрувальний папір.

Основні відомості. Коренева система є органом мінерального живлення рослин. Корінь – осьовий вегетативний орган рослин, який характеризується такими ознаками: має радіальну симетрію і верхівковий ріст, конус наростання, покритий корневим чохлаком, утворює кореневі волоски, за допомогою яких поглинає воду і мінеральні солі, може галузитись, вступає в симбіоз з грибами і бактеріями, є місцем нагромадження поживних речовин, органом розмноження.

Основними функціями кореневої системи є поглинання і транспортування речовин у надземні органи. Крім цього, коренева система є органом обміну і синтезу речовин, забезпечує виділення в навколишнє середовище продуктів метаболізму. Розвиток кореневої системи не тільки залежить від мінерального живлення рослин, але й впливає на процеси поглинання, перетворення і транспортування поживних речовин до надземних органів, їх ріст і розвиток.

Виконання роботи

1. Закріплюють скляну посудину 1 на штативі (рис. 1). Нижню частину її 2 з'єднують гумовою трубкою з градуйованою піпеткою на 12 мл (4). Під невеликим кутом на тому ж штативі прикріплюють і градуйовану піпетку. Складі частини приладу вимивають хромовою сумішшю, заливають в нього дистильовану воду.

2. Перед початком досліду перевіряють справність приладу: в посудину 1 з водою занурюють пробірку, при цьому меніск переміщується в піпетці. Якщо меніск не рухається, в гумовій трубці є повітря, яке треба видалити.

3. Рослини, які будемо аналізувати, складають так, щоб кореневі шийки були на одному рівні. Кореневі системи злегка просушують фільтрувальним папером, відмічають положення в піпетці меніска А і занурюють їх у воду. Рівень води у посудині підвищується, і меніск в піпетці підніметься до положення В.

4. Якщо відстань, яку проходить меніск АВ, незначна, збільшують нахил піпетки 4, тим самим підвищують чутливість приладу. Корені виймають і чекають, поки вода стече в посудину.

5. Якщо після стікання води меніск буде нижче А, в посудину обережно доливають воду доти, доки меніск не займе положення А.

6. На штативі над посудиною закріплюють бюретку з дистильованою водою. Воду випускають в посудину, поки меніск не займе положення С. Долитий об'єм води з бюретки дорівнюватиме об'єму кореневої системи досліджуваних рослин.

7. Визначення повторюють мінімум 3 рази, визначають середнє значення об'єму корневих систем.

8. У висновку відзначити вплив елементів мінерального живлення на формування корневих систем рослин, вирощених в умовах водних культур, чи можна за об'ємом корневих систем рослин прогнозувати їх продуктивність.

За відсутності приладу для визначення об'єму коренів можна використати мірний циліндр, в який наливають води до певної мітки. Потім у циліндр занурюють кореневу систему рослини і відмічають рівень підняття води у циліндрі. На скільки мл піднявся рівень води в циліндрі, такий буде об'єм кореневої системи рослин.

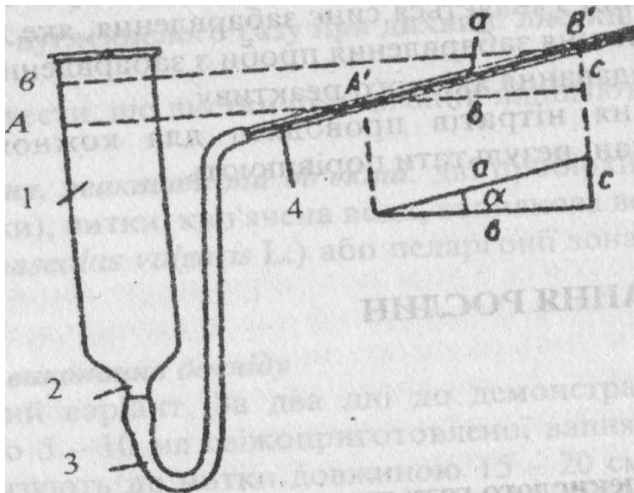


Рис. 1. Прилад для визначення об'єму коренів (за Д. А. Сабініним і І.І Колосовим): 1 – циліндрична посудина, 2 – відтягнутий кінець посудини, 3 – гумова трубка, 4 – градуйована піпетка; А – вихідний рівень води в циліндрі, В – рівень води в циліндрі після занурення коренів, А' – вихідне положення

меніска в піпетці, В' – положення меніска в піпетці після занурення коренів.

За результатами дослідження записують у робочий зошит висновки.

Робота 31. Вплив бактеризації насіння на нодуляційну здатність бобових культур

Мета: порівняти нодуляційну здатність бобових культур за передпосівної обробки їх насіння бактеріальними препаратами та на фоні спонтанної інокуляції.

Обладнання, матеріали, реактиви: препарувальні голки, фільтрувальний папір.

Основні відомості. Бобові рослини вступають у симбіоз з бульбочковими бактеріями. Бульбочкові бактерії (ризобії) живуть у ґрунті, поширені в усіх кліматичних зонах земної кулі, мають здатність проникати в кореневі волоски бобових рослин та утворювати спеціалізовані органи – бульбочки, в яких фіксується нітроген. Бульбочкові бактерії характеризуються видовою та сортовою специфічністю, активністю, вірулентністю та конкурентоспроможністю.

Сучасна систематика розглядає шість родів бульбочкових бактерій:

**Rhizobium* (*R. tropici*, *R. leguminosarum* bv. *viceae* та ін.),

**Bradyrhizobium* (*B. lupini*, *B. japonicum*),

**Azorhizobium* (*A. caulinodans*),

**Sinorhizobium* (*S. meliloti*

**Alorhizobium*

Серед них тільки *Bradyrhizobium* є повільнорослими, всі інші роди бульбочкових бактерій є швидко рослими.

Встановлено, що бульбочкові бактерії відрізняються між собою, а тому рід *Rhizobium* необхідно розглядати як групу близько споріднених мікроорганізмів. У молодому віці ризобії рухливі, на поверхні клітинної стінки розміщені перетрихально, або субполярно джгутики, мають паличкоподібну форму, завдовжки від 1,2 до 3 мкм. Бульбочкові бактерії є грамнегативними, неспороносними аеробними організмами. Коли бульбочкові бактерії старіють, то вони втрачають джгутики, перестають бути рухливими і набувають вигляду оперезаних паличок. З віком клітина бактерій наповнюється включеннями жировими, які не забарвлюються. Зі старінням у бульбочках паличкоподібні бульбочкові бактерії потовщуються, палички розгалужуються, набувають уподібної форми, є значно більшими за звичайні клітини. Ці поліморфні структури дістали назву бактероїдів. Вони нерухомі та не розмножуються. Проте найбільш активно відбувається засвоєння молекулярного нітрогену в бульбочках саме тоді, коли паличкоподібні бульбочкові бактерії перетворюються на бактероїди. Форма бульбочок залежить від генотипу макросимбіонта. За забарвленням бульбочок можна оцінити активність фіксації ризобіями нітрогену. Бульбочки, які формують активні раси бактерій, мають рожеве забарвлення. Їм такого забарвлення надає пігмент леггемоглобін (фітоглобін), що за хімічним складом близький до гемоглобіну крові. Вважають, що леггемоглобін сприяє процесу засвоєння нітрогену, підтримуючи окислювально-відновний потенціал на певному рівні. Бульбочки, які формують неактивні раси бактерій, забарвлені у зеленкуватий колір.

Бобово-ризобіальний симбіоз поліпшує азотне живлення рослин, підвищує їх продуктивність, покращує якісні показники урожаю, родючість ґрунтів, оскільки сприяє накопиченню у ґрунтах корисних для рослин сполук нітрогену, що є екологічно безпечним та економічно доцільним. Це зумовлює актуальність детального вивчення процесів формування і функціонування симбіотичних азотфіксуєючих систем.

Проведення роботи

Для досліду з кожною культурою вибрати по дві ділянки площею 2 м² кожна. На одну з них висівають оброблене мікробним препаратом на

основі бульбочкових бактерій насіння бобової культури, друга ділянка слугує контролем. Залежно від виду бобової культури спосіб сівби може бути суцільний з міжряддями 15 см, або широкорядний з шириною міжрядь 45 см. Кількість насінин в метровому рядку становить 25 штук. Глибина загортання насіння 3 – 4 см. Передпосівну інокуляцію насіння проводять перед сівбою з розрахунку 200 – 300 тисяч бактеріальних клітин на одну насініну.

На початку квітування викопують по 5 рослин, акуратно відмивають кореневу систему і розглядають за допомогою лупи. На коренях рослин контрольної та дослідної ділянок підраховують і описують бульбочки. Одержані результати заносять у таблицю.

Результати дослідження симбіотичних систем у інокульованих та неінокульованих рослин

Назва рослини	Кількість бульбочок			Розташування бульбочок (окремо, у вигляді грона, тощо)	Форма бульбочок (округлі, видовжені)	Колір бульбочок
Варіант дослід	Великих (... мм)	Середніх (... мм)	Дрібних (... мм)			
Бактеризація						
Контроль						
Бактеризація						
Контроль						

Виготовити гербарій рослин з кожної ділянки.

Результати дослідження узагальнити у формі висновків, обґрунтувати вплив бактеризації насіння різних видів бобових культур на здатність цих рослин утворювати бульбочки.

За відсутності польового досліду з використанням мікробіологічних препаратів можна викопати по 3-4 рослини різних видів бобових рослин, акуратно відмити кореневі системи і розглянути бульбочки. За запропонованою вище схемою оцінити формування симбіотичних систем на коренях видів родини Бобові культивованої та природної флор на фоні спонтанної інокуляції.

Робота 32. Антагоністичний вплив іонів калію і кальцію на цитоплазму рослинної клітини

Мета: навчитися виявляти антагоністичний вплив іонів калію і кальцію на цитоплазму клітин епідерми синьозабарвленої цибулі за формами плазмолізу.

Обладнання, матеріали, реактиви: мікроскопи; предметні стекла і накривні скельця; бритви; ланцети; скляні бюкси; препарувальні голки; синьозабарвлена цибуля; 1М розчини KNO_3 і $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$.

Основні відомості. Антагонізм іонів можна досліджувати на організменному та клітинному рівнях. Різні іони однакової валентності (K^+ , Na^+ , Li^+) та іони різної валентності (K^+ , Ca^{2+}) можуть проявляти антагоністичні відносини. Найкраще у лабораторних умовах на клітинному рівні спостерігати антагонізм іонів між одно- і двовалентними катіонами на клітинах епідерми синьозабарвленої цибулі. Прикладом цього може бути антагонізм між K^+ і Ca^{2+} . Проте, що одно- і двовалентні катіони K^+ і Ca^{2+} по-різному впливають на в'язкість цитоплазми, зумовлюють різну і навіть протилежну фізіологічну дію, вказує різна форма плазмолізу, яку вони викликають у рослинних клітинах.

Проведення роботи

У три скляні бюкси наливають приготовлені 1М розчини: у перший – розчин KNO_3 , у другий – розчин $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, у третій – суміш з дев'яти частин KNO_3 та однієї частини $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$. В розчини занурюють по 2-3 зрізи шкірочки синьозабарвленої цибулі. Бюкси закривають притертими кришками і залишають на 0,5 год. Після цього зрізи виймають, поміщають на предметне скло у той розчин, в якому вони перебували, накривають покривним і акуратно розглядають під мікроскопом. У клітинах тих зрізів, які були занурені в 1 М розчині KNO_3 добре видно ковпачковий плазмоліз. Це явище є результатом впливу на цитоплазму іонів калію. У клітинах епідерми, які витримували в 1 М розчині $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ виявляють спазматичну форму плазмолізу, ковпачкова – не спостерігається. Це вказує на те, що іони кальцію виявляють протилежний фізіологічний вплив на цитоплазму клітин епідерми. Особливо протилежний фізіологічний вплив іонів кальцію виявляється

у суміші розчинів калію і кальцію (9:1). Отже, іони кальцію мають антагоністичний вплив на іони калію тому, що навіть невеличка домішка розчину солі кальцію, додана до розчину калійної солі, паралізує дію іонів калію на цитоплазму.

Дослідження антагонізму іонів на клітинному рівні можна проводити і без витримування зрізів з епідерми синьозабарвленої цибулі у розчинах. На два предметних скла кладуть зрізи з шкірочки синьозабарвленої луски цибулі і на перше скло наносять краплину 1 М розчину KNO_3 , а на друге – краплину 1 М розчину $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$. Препарати накривають накривними скельцями і розглядають під мікроскопом. На першому препараті розчин KNO_3 спочатку зумовлює угнуту форму плазмолізу, яка поступово переходить в опуклу форму, а потім у ковпачковий плазмоліз.

У розчині солі кальцію відразу утворюється спазматична форма, плазмолізу, яка зберігається тривалий час. Під кінець роботи роблять зарисовки і відповідні висновки.

ТЕМА. РІСТ І РОЗВИТОК РОСЛИН

Робота 33. Визначення зон росту кореня і стебла нанесенням позначок

Мета: пригадати особливості анатомічної будови кореня на поздовжньому перерізі. Навчитися наносити мітки препаративною голкою за допомогою туші канцелярської на корені проростків бобових рослин, виготовляти вологу камеру, проводити фенологічні спостереження за рослинами, визначити зони росту кореня та стебла.

Обладнання, матеріали, реактиви: скляні банки або циліндри для вологих камер; міліметровий папір; тоненькі голки; фільтрувальний папір; нитки; туш (виготовляють розтиранням сухої туші з 5 %-м розчином альбуміну); проросле насіння бобів, гороху, квасолі, кукурудзи, соняшника; термостат.

Основні відомості. Ростові процеси у рослин відбуваються завдяки наявності твірних тканин, поділу клітин росту й диференціації клітин. Завдяки діяльності верхівкових апікальних (від лат. *apex* – верхівка) меристем пагонів і коренів відбувається ріст у довжину, галуження пагонів і коренів. За рахунок діяльності бічної або латеральної меристеми (клітин камбію) рослини ростуть у товщину. Злакові культури ростуть за рахунок інтеркалярної меристеми, листки – базальної. Отже, ростові процеси найбільш активно відбуваються в конусах наростання осьових органів, в міжвузлях злаків, основах листків, зумовлюючи їх лінійний ріст. У період росту рослин клітини апікальних і латеральних меристем безперервно діляться. Німецький фізіолог рослин Ю. Сакс визначив три фази росту клітин: ембріональну, розтягування і диференціації. Ембріональна фаза онтогенезу клітини характеризується безперервним інтенсивним поділом. Зазначена фаза характеризується збільшенням кількості клітин у результаті їх поділу, але дуже мало змінюються їх розміри. Навпаки, фаза розтягування характеризується збільшенням розміру клітин. У третій фазі росту – диференціації – кількість і розмір клітин не збільшуються, але звичайні клітини перетворюються на різні спеціалізовані утворення, тобто набувають ознак певної тканини. Для визначення зони росту кореня або стебла в лабораторних умовах використовують метод нанесення

позначок тушшю на поверхню вегетативного органа на однакових відстанях одна від одної. В міру росту органа ці відстані збільшуються між позначками, що дає змогу робити висновок про інтенсивність росту різних ділянок зони росту досліджуваного органа.

Проведення роботи

1. Верхівковий ріст кореня і стебла. Апікальний тип росту кореня і стебла досліджують на проростках бобових культур. За 4 – 5 днів до проведення дослідження пророщують насіння. Для цього у чашку Петрі на фільтрувальний папір кладуть 10 насінин гороху, наливають до половини насінини води (для зволоження), накривають кришкою і ставлять у тепле місце. За тиждень до проведення дослідження пророщують насіння у ґрунті. Для цього таку ж саму кількість насіння гороху висівають у горщик з ґрунтом і також ставлять у тепле місце. Під час проведення досліду на 4-ий день беруть з чашки Петрі два проростки гороху з однаковими за довжиною корінцями, відрізають у одного верхівку і поміщають на добре зволожений папір у нову чашку.

З проростків гороху, які вирощували у горщику з ґрунтом, зрізують не верхівку кореня, а верхівку стебельця, 1,5 – 2 см завдовжки. У першому досліді вже на 2-у добу добре видно, що цілий корінь продовжує рости у довжину, а у кореня з відрізаною верхівкою ріст припинився. У досліді зі зрізаними верхівками стебла через 1 – 2 доби добре видно, що ріст стебла без верхівки припиняється. Отже, на основі досліду можна зробити висновок, що корінь і стебло ростуть своїми верхівками.

2. Визначення зони росту кореня. Для визначення зони росту кореня використовують проростки бобів, гороху, кукурудзи або інших рослин з прямими коренями, 1,5 – 2 см завдовжки. Корені обережно обсушують фільтрувальним папером і ниткою або препарувальною голкою, змоченою в розчині туші, наносять через кожен 1 мм поперечні позначки, починаючи від кінчика кореня.

Проростки поміщають у вологу камеру. Для цього стійки пробірки зсередини обгортають фільтрувальним папером, наливають на висоту 1-2 см води і поміщають корінчиком вниз проросток так. Щоб корінець не торкався стінок пробірки. Камеру з проростками ставлять в тепле місце або термостат при температурі 20 – 25 °С.

Через 24 год. вимірюють, наскільки розійшлись окремі поділки (беруть середнє з 6 – 8 позначень) і будують криву росту. На осі абсцис відкладають усі поділки, а на осі ординат – середній приріст між окремими поділками. У корені зона найбільшого росту коротка і близько розташована від кінчика кореня. Наприклад, у бобів вона займає 3 – 7 мм, а в гороху – 2 – 4 мм. Зона найбільшого росту є не лише в корені, а й у стеблі.

3. Визначення зони росту стебла. В стеблі апікальна меристема займає кілька сантиметрів і більш віддалена від верхівки. Тому, в стеблі зону росту можна добре виявити, наносячи позначки кожні 2 – 4 мм. Для виконання цієї роботи беруть кілька пророслих насінин соняшника, кукурудзи або інших рослин і наносять тушшю на підсім'ядольне коліно поперечні позначки, починаючи від верхівки проростка вниз через кожні 2 мм на відстані 2 – 3 мм. Проростки ставлять у темне місце при 20–25 °С. Через добу міліметровою лінійкою вимірюють, наскільки розійшлись окремі поділки на кожному з 10 проростків, обчислюють середнє і будують криву росту, як і при визначенні зони росту кореня. Результати досліду записують за такою схемою:

Об'єкт	№ проростка	Зона приросту, мм									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	1.										
	2.										
	3.										
	І т.д.										
	Середнє										

За результатами досліджень будують графіки, роблять зарисовки.

Робота 34. Спостереження за проростанням пилку і ростом пилкової трубки

Мета: виявити ростові процеси рослин у лабораторних умовах за допомогою світлового мікроскопа та встановити життєздатність пилку квіток різних кімнатних або сільськогосподарських рослин.

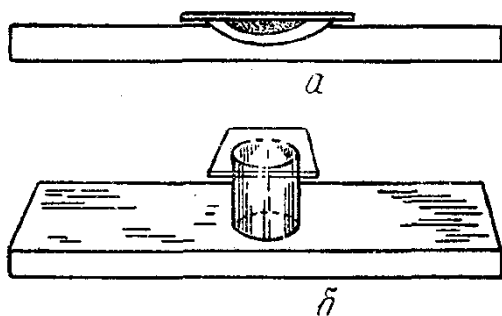
Обладнання, об'єкти, реактиви: аптечні терези; мікроскопи; окуляр-мікрометри; предметні стекла із заглибленнями; звичайні предметні стекла і накривні скельця; ланцети; спиртівки; чашки Петрі; кристалізатори; фільтрувальний папір; агар-агар; вазелін; сахароза колби місткістю 100 мл; щойно розкриті квітки різних видів рослин.

Основні відомості. У лабораторних умовах ростові процеси рослин можна виявляти за допомогою світлового мікроскопа на прикладі проростання пилкових зерен і росту пилкових трубок на штучних середовищах у вологій камері. Пилкове зерно після запилення потрапляє на приймочку маточки, проростає у пилкову трубку, яка проявляючи хемотропізм росте в напрямку до зав'язі.

Пилок багатьох видів рослин проростає на штучних живильних середовищах. Таке пророщування в лабораторних умовах є одним із методів визначення життєздатності пилку. Воно має велике значення в генетичних дослідженнях.

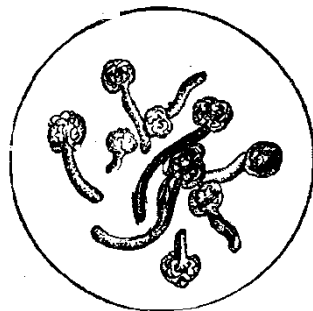
Проведення роботи

За проростанням пилку і ростом пилкової трубки спостерігають під мікроскопом у вологій камері. Для цього скляну трубку 10 – 12 мм діаметром розрізають на кільця 5 – 7 мм завдовжки, відшліфовують краї і прикріплюють у центрі стерильного предметного скла парафіном. Верхній край кільця змазують вазеліном. Всередину на дно кільця наносять краплину води. Далі на чисте накривне скельце наносять краплю рідкого живильного середовища з агар-агару і сахарози (1 г агар-агару і 5 – 10 г сахарози залежно від об'єкту розчиняють у воді при нагріванні і доводять до 100 мл) та швидко висівають пилок. Накривне скельце перевертають і накривають ним кільце камери так, щоб крапля була в центрі заглиблення, але не торкалася його країв.



На рис. представлена камера Ван-Тігема.

Волога камера «висяча крапля» для спостереження за проростанням пилку і ростом пилкової трубки (а); камера Ван-Тігема для пророщування пилку (б).



Пророслі пилкові зерна з квіток пеларгонії.

Вологу камеру можна виготовити простіше. Для цього беруть стерильне предметне скло із лункою, краї якої змазують вазеліном, дно заглиблення змочують водою. Після цього на накривне скельце наносять склянною паличкою краплю теплового живильного середовища і швидко висівають пилок, скельце перевертають краплею вниз і накривають ним заглиблення так, щоб крапля була в центрі заглиблення, але не торкалася країв. У мікробіологічних дослідженнях так готують препарати «висяча крапля».

Вологі камери з пилком поміщають у термостат при температурі 20 – 30°C. Через кожну годину пилок розглядають під мікроскопом, щоб виявити початок його проростання. Коли пилок проросте і утворяться пилкові трубки, одну з них розглядають при малому збільшенні мікроскопа і стежать за швидкістю росту кінчика пилкової трубки.

Визначення життєздатності пилку пророщуванням. Для визначення життєздатності пилку готують штучне живильне середовище, яке містить у своєму складі 10 %-й розчин сахарози і 1 % розчин агар-агару (складний вуглевод червоних водоростей).

Приготування живильного середовища. 1 г агар-агару поміщають у колбу місткістю 150 – 200 мл, додають 30 – 40 мл води і залишають при кімнатній температурі на кілька годин для набухання агар-агару. У 70 – 60 мл води розчиняють 10 г сахарози і приготовлений розчин виливають

у стакан з набухлим агар-агаром, суміш підігрівують на водяній бані (не доводячи до кипіння) до однорідної консистенції.

На чисте предметне скло наносять живильне середовище. Щоб живильний агар-агар рівномірно вкрив всю поверхню предметного скла, наливають гарячий агар-агар і нахиляють скло вертикально. При цьому на склі застигає тоненький шар агар-агару, а решта його стікає в кристалізатор.

Техніка посіву пилку. Квітку тримають над предметним склом і по пиляках вдаряють препарувальною голкою, при цьому пилок висівається на живильне середовище. Засіяні предметні стекла ставлять у вологу камеру для пророщування. Дослідження проводять здебільшого через 24 години після посіву.

За результатами дослідження роблять зарисовки і записують висновки.

Робота 35. Визначення зони геотропічного згину кореня і стебла

Мета: навчитися виготовляти вологі камери, вирощувати проростки рослин, закладати досліди для визначення реакції рослин на силу земного тяжіння, виявляти зони геотропічного згину кореня і стебла, позитивний та негативний геотропізм.

Обладнання, матеріали, реактиви: скляні банки місткістю 0,5 л; скляні пластинки, які можна помістити в банки; нитки; туш; шпильки; фільтрувальний папір; проросле насіння кукурудзи, бобів, соняшника та ін.

Основні відомості. Тропізми – це ростові рухи рослин, вони виникають у результаті однобічного впливу подразника. Залежно від подразників розрізняють гео-, фото-, гідро-, хемо-, аеро-, тігмо- та інші тропізми. Вони зумовлюють положення і напрям росту органа. Кожний вид тропізму може бути позитивним і негативним. Якщо орган, або рослина рухається в сторону дії подразника, то такий рух називають позитивним тропізмом, якщо – у протилежну дії подразника, то це негативний тропізм. Найпоширенішим серед тропізмів є геотропізми – здатність органів рослини займати певне положення під впливом сили земного тяжіння. Для коренів характерний позитивний геотропізм, тобто вони ростуть у напрямку дії сили земного тяжіння.

У протилежному напрямі до дії земного тяжіння росте стебло, для нього характерний негативний геотропізм. При проростанні насіння завдяки позитивному геотропізмові корені завжди заглиблюються в ґрунт, завдяки негативному геотропізмові стебло проявляє негативний геотропізм. Це має практичне значення, оскільки при виляганні рослин часто через деякий час стебло піднімається. Геотропічні згини відбуваються тільки в молодих (які ростуть) частинах стебла кореня. Геотропічна реакція має три фази: а) сприйняття сили тяжіння, б) геотропічної індукції, в) геотропічного згину. Остання фаза здійснюється у зоні розтягання. Для закінчення геотропічної реакції необхідний певний проміжок часу, який називають час презентації. Для колеоптилів пшениці час презентації складає біля 6 хв.

Проведення роботи

Для вивчення геотропізму і визначення зони геотропічного згину, беруть квадратну або прямокутну скляну пластинку, обгортають фільтрувальним папером, зав'язують ниткою, прикріплюють до неї пророслу насінину корінцями вгору і поміщають у вологу камеру. Вологою камерою може слугувати скляна банка місткістю 0,5 л, стінки якої з середини вистелені фільтрувальним папером. У банку наливають трохи води і поміщають у неї вертикально скляну пластинку з прикріпленим проростком. Через 1 – 2 доби спостерігають за положенням корінців на пластинці.

Щоб визначити зону геотропічного згину кореня і стебла проводять подібні операції з проростками, як і при визначенні зони росту стебла і кореня методом позначок. У даному досліді проростки прикріплюють в горизонтальному положенні, щоб у кореня позначки були зверху, а на стеблі – знизу. Вологі камери з проростками залишають при кімнатній температурі або поміщають у термостат з температурою 22 – 25 °С і через 24 год. відмічають, між якими позначками відбувається згин кореня і стебла.

Результати дослідження замальовують у робочий зошит.

Робота 36. Виявлення явища фототропізму у рослин

Мета: навчитися закладати досліди для виявлення явища фототропізму

у молодих проростків злакових культур.

Обладнання, матеріали, реактиви: фототропічна камера; станіоль; сірники; молоді проростки пшениці або інших злакових культур.

Основні відомості. Фототропізм (від гр. фотос – світло) ростовий рух органів рослин під дією одnobічного освітлення. Для стебла характерний позитивний фототропізм, а для кореня – негативний фототропізм. Фототропічні згини виникають в результаті нерівномірного росту освітленої та затемненої сторони рослини. Згідно з гормональною теорією М. Г. Холодного і Ф. А. Вента, нерівномірний розподіл фітогормонів з освітленої та затемненої сторони рослини є причиною тропізмів. Завдяки фототропізмові, листки рослин розміщуються так, щоб кожен дістав максимальну кількість світла (явище листкової мозаїки). Щоб виявити явище фототропізму, як і при вивченні гео- та гідротропізму, проводять прості досліди.

Проведення роботи

За 10 – 12 днів до початку досліду пророщують насіння злакових культур. Для цього у горщечки з ґрунтом висівають насіння пшениці і ставлять в темряву для проростання (отримують етіольовані проростки). Коли висота проростків досягне 4 – 5 см, на частину не прорваних колеоптилів накладають ковпачки із станіоллю, приблизно 1 см завдовжки.

Горщик з проростками пшениці, частина колеоптилів яких покрита ковпачками, ставлять у фототропічну камеру – ящик з чорними внутрішніми стінками і малим отвором в одній з них і виставляють на світло. В фототропічній камері освітлюються верхівки проростків пшениці. За одну-дві доби спостерігають і відзначають, що ті проростки пшениці, які мають ковпачки на верхівках колеоптилів продовжують рости у вертикальному положенні, а проростки пшениці без ковпачків зігнулися в напрямі до світла. Результати досліду замальовують в робочих зошитах і роблять висновок про те, що світлове подразнення сприймається верхівкою колеоптеля, яка не є пошкодженою (якщо замість ковпачка верхівку проростка пшениці зрізати на 0,5 – 1 см, то проросток не реагує на світло подібно до проростка, верхівка якого закрита ковпачком).

Робота 37. Виявлення явища гідротропізму у рослин

Мета: навчитися виготовляти вологі камери, закладати досліди для виявлення явища гідротропізму у проростків льону.

Обладнання, матеріали, реактиви: скляні банки місткістю 0,5 – 1,0 л; скляні пластинки, що входять у банку; пластинки з корку; фільтрувальний папір; нитки; насіння льону, крес-салату, огірків.

Основні відомості. Дуже важливе значення для рослин має гідротропізм (від. гр. гідро – вода) – явище ростового руху (згину) рослини залежно від впливу вологи. Рослина реагує на воду за нерівномірного зволоження. Гідротропічні згини виникають у напрямку, де більше вологи, якщо рослина розвивається в середовищі з неоднаковою кількістю води. В умовах з достатньою кількістю вологи ці рухи не виявляються. Гідротропічна чутливість, подібно до геотропічної, зосереджена в основному у кінчику кореня, причому вона є позитивною.

Проведення роботи

Скляні або коркові пластинки обгортають фільтрувальним папером і перев'язують нитками. На зволожений папір пластинки приклеюють насіння льону або крес-салату. Пластинку з насінням кладуть у вологу камеру (виготовляють аналогічно опису в попередній роботі) під нахилом, на дно якої наливають 1-2 мл води. Одну банку закривають (волога камера), а другу залишають відкритою. Волога камера утворюється у закритій банці, кінчики корінців пророслого насіння не реагують на воду і ростимуть вертикально вниз під впливом сили земного тяжіння (проявляють позитивний геотропізм). У відкритій банці повітря буде сухе в результаті газообміну з атмосферним, і корінці досліджуваних рослин ростимуть не вертикально, а під тим кутом, під яким стоятиме пластинка, тобто притискуватимуться до вологої поверхні пластинки (позитивний гідротропізм).

Результати дослідження замалювати у робочому зошиті.

Робота 38. Вплив гетероауксину на ріст коренів

Мета: навчитися виготовляти розчини різних концентрацій, закладати

досліди для виявлення стимулюючої і гальмівної концентрації гетероауксину на ріст коренів злакових культур.

Обладнання, матеріали, реактиви: чашки Петрі; мірні колби місткістю 100 мл; торсійні терези; мірні циліндри місткістю 25 – 50 мл; піпетки місткістю 1,5 мл; гетероауксин; дистильована вода; фільтрувальний папір; насіння пшениці, ячменю, кукурудзи та ін.;

Основні відомості. Фітогормони – це біологічно активні речовини, які синтезуються в дуже малих кількостях у рослин, але регулюють майже всі процеси їх життєдіяльності. Фітогормони поділяють на речовини стимулювальної дії (ауксини, гібереліни, цитокініни) та інгібіторної (абсцизова кислота, етилен). Ауксини за хімічною природою є речовинами індольної природи. Важливим представником ауксинів є β -індолілоцтова кислота (ІОК) або гетероауксин ($C_{10}H_9O_2N$). Місцем синтезу у рослині ІОК є молоді клітини меристематичних тканин верхівок стебел і коренів, молоді листки і плоди, зав'язі, пилок, бруньки тощо. Ауксини рухаються по рослині полярно, тобто з верхівки стебла вниз, а із верхівки кореня вгору.

Ауксини впливають на ріст клітин у фазі розтягання. Вони також зумовлюють корелятивний ріст рослин, сприяють укоріненню живців. Фізіологічна дія ІОК так як і інших фітогормонів залежить від її концентрації. Висока концентрація ІОК гальмує ростові процеси рослин. Варто зазначити, що для різних рослин і навіть різних органів однієї рослини концентрація ІОК істотно відрізняється.

У цій роботі ставиться мета знайти стимулюючу і гальмуючу концентрацію гетероауксину на ріст коренів пшениці, кукурудзи та інших культур. У дослідженні необхідно пророщувати насіння на розчинах різних концентрацій гетероауксину і вимірювати довжини корінців.

Проведення роботи

У шість чашок Петрі кладуть кружечки фільтрувального паперу. Папір звожують 10 мл води (контроль) і розчинами гетероауксину (дослід) таких концентрацій: 0,01 %-й розчин, 0,001-й, 0,0001%-й, 0,00001%-й і 0,000001%-й розчини.

На зволожений фільтрувальний папір розкладають по 5 – 10 зернівок пшениці або кукурудзи, закривають чашки Петрі кришками і

ставлять у темряву при температурі 20 – 25 °С. Через тиждень вимірюють довжину корінців проростків, знаходять середнє значення та розраховують відсоток їх до контролю. Довжина корінців проростків, вирощених на дистильованій воді становить 100 %, а відповідно довжина корінців проростків, вирощених на певних концентраціях гетероауксину – Х. За пропорцією обчислюють Х та заповнюють таблицю за такою схемою й роблять відповідні висновки:

Об'єкт	Варіант досліджу	Сумарна доважина корінців, см	Середня довжина корінців на 1 росл., см	Довжина корінця, % до контролю
	Вода (контр.)			
	Гетероауксин:			
	0,01%			
	0,001%			
	0,0001%			
	0,00001%			
	0,000001%			

ТЕМА. ФІЗІОЛОГІЯ ВИДІЛЕННЯ РЕЧОВИН РОСЛИННИМ ОРГАНІЗМОМ

Робота 39. Дослідження алелопатичної активності водорозчинних виділень листків кімнатних рослин

Мета: навчитися за допомогою методу біотестів оцінювати алелопатичну активність водорозчинних виділень листків кімнатних рослин.

Обладнання, матеріали, реактиви: чашки Петрі, фільтрувальний папір, ножиці, мірні пробірки або піпетки, мірні циліндри, ножиці, насіння пшениці, насіння крес-салату, термостат, аптечна або електронна вага.

Основні відомості. Алелопатія – хімічна взаємодія між організмами, взаємний вплив організмів (рослин, грибів, тварин, мікроорганізмів); явище виділення одними організмами фізіологічно активних речовин, які гальмують або, навпаки, стимулюють процеси життєдіяльності інших організмів. Термін алелопатія запровадив німецький учений Ганс Моліш у 1937 р. Алелопатія зумовлена виділеннями рослин у навколишнє середовище продуктів життєдіяльності, які вчені називають по-різному: фітонциди, біоліни чи фітоліни, а найчастіше – *коліни*. Зазначені речовини впливають на рослини та їх хімічний склад безпосередньо або опосередковано через зміни екологічних факторів. Кожна рослина у фіто- чи агроценозах виділяє в навколишнє середовище і, відповідно, поглинає речовини, таким чином виступає водночас донором і акцептором біологічно активних речовин (БАР). На основі цього, кожна рослина характеризується активністю – здатністю утворювати й виділяти коліни, і толерантністю – здатністю переносити свої власні коліни (ауто толерантність) або коліни інших видів. При цьому леткі або водорозчинні виділення одного виду або різних органів рослини зумовлюють різну відповідну реакцію в інших видів: в одних видів підвищується активність життєвих процесів, у інших – спостерігається гальмування, треті ж залишаються байдужими. Наприклад, водні екsudати з опалого листя липи стимулюють ріст проростків ясена, а коліни її коренів істотно гальмують ріст стрижневої кореневої системи й не впливають на ростові процеси пагонів. Кореневі екsudати берези бородавчастої гальмують ріст і знижують інтенсивність

фотосинтезу дуба звичайного, в'язів дрібнолистого й звичайного. У процесі онтогенезу кореневі системи рослин поглинають з ґрунту амінокислоти, фенольні сполуки, інгібітори і стимулятори росту, антибіотики, алкалоїди тощо, які є продуктами життєдіяльності інших рослин, грибів, мікроорганізмів, утворюються в результаті мінералізації решток живих організмів. Алелопатія сприяє змінам загального обміну речовин, анатомічної будови рослинних тканин, інтенсивності протікання фізіологічних процесів: дихання, синтезу, надходження й накопичення поживних та БАР.

За хімічним складом речовини, що зумовлюють алелопатію, різноманітні. Усі речовини, які беруть участь у хімічній взаємодії рослин, український фізіолог А.М. Гродзинський поділив на 3 великі групи.

До першої групи відносять речовини вторинного походження (органічні кислоти, ефірні олії, вітаміни, антибіотики, флавоноїди, дубильні речовини та інші поліфеноли, алкалоїди, сапоніни, глікозиди, тощо). Ці алелопатично активні сполуки видоспецифічні, можуть утворюватися в результаті нормального метаболізму чи бути продуктами мінералізації відмерлих рослин. Під впливом ефірних олій у ґрунті накопичуються коліни, які зумовлюють ґрунтовтому.

Друга група – високотоксичні речовини, які утворюються в аеробних та анаеробних умовах внаслідок амоніфікації білків рослинного та мікробного походження (пептиди, амінокислоти, нуклеозиди, органічні кислоти, амідні кислот, аміно- та імінопохідні, індолпохідні, аміак). Зазначеним речовинам не властива видова специфічність, вони можуть бути присутніми як в живих так і відмерлих тканинах рослин, виділеннях живих організмів.

До третьої групи відносять різні продукти мінералізації і гуміфікації рослинних тканин (гумінові кислоти та їх похідні, нафтохінони, антрахінони, складні хінони, вищі жирні кислоти, корична кислота та її похідні). Найчастіше полімерні сполуки ароматичного ряду мають у своєму складі фенольні групи, часто містять у гетероциклах нітроген, утворюють комплекси з солями (хелати) і характеризуються високою алелопатичною активністю. Завдяки наявності цих речовин відбувається алелопатична взаємодія між рослинами впродовж усього

онтогенезу: змінюється їх продуктивність, кількість та якість окремих БАР.

Явище алелопатії необхідно враховувати при розробці структури сівозмін, вирощуванні рослин у змішаних посівах як один із чинників, що регулює взаємовідносини рослин у агроценозі й допомагає у боротьбі з фітопатогенними організмами. Наслідком алелопатії є явище ґрунтовтоми, за якої алелопатично активні речовини вирощуваних рослин пригнічують життєдіяльність нових посівів.

Проведення роботи

Алелопатичну активність водорозчинних екстрактів листків кімнатних рослин визначаємо методом біотестів за А. М. Гродзинським. У якості тест-об'єктів використовуємо однодобові проростки пшениці м'якої (*Triticum aestivum* L.) та крес-салату (*Lupidium sativum* L.).

Моделлю рослинних виділень слугують витяжки, які виготовляють настоюванням свіжого рослинного матеріалу в дистильованій воді протягом 24 год. при кімнатній температурі. Співвідношення між наважкою рослинного матеріалу й об'ємом води становить 1:10, 1:50, 1:100.

Для виготовлення витяжок з листків кімнатних рослин беремо 4-5 листків одного виду кімнатної рослини, подрібнюємо їх і відважуємо 5 г подрібнених тканин. Подрібнений середній зразок листків поміщаємо у колбу, додаємо 45 мл дистильованої води і настоюємо протягом 24 год при кімнатній температурі. Після цього фільтруємо. Фільтрат має розведення 1:10. Щоб отримати витяг з розведенням 1:50, беремо 1мл витягу розведення 1:10 і додаємо 4 мл дистильованої води. Для виготовлення витягу з розведенням 1:100 беремо 1мл витягу розведення 1:10 і додаємо 9 мл дистильованої води.

Для визначення алелопатичної активності водорозчинних екстрактів листків кімнатних рослин беремо чашки Петрі. На їх дно ставимо фільтрувальний папір, наливаємо 5 мл витягу і розкладаємо по 15 наклюнувших насінин біотесту (пшениці або крес-салату), накриваємо фільтрувальним папером і ставимо у термостат за температури 24 град. на 24 год. Контролем слугують проростки, вирощені на дистильованій воді. Через 24 год. вимірюємо довжину корінців біотестів і визначаємо їх відсоток до контролю.

Результати дослідження записуємо у таблицю.

Об'єкт	Довжина корінців, мм			% до контролю		
	1:10	1:50	1:100	1:10	1:50	1:100
Контроль				100,0	100,0	100,0

Якщо довжина корінців біотесту менша 70% до контролю, то це свідчить про наявність у екстрактах БАР, що проявляють інгібувальну дію, більшу 130% – стимулювальну активність. За довжини корінців 95-105% до контролю БАР листків діють індиферентно. Чим менша довжина корінців біотесту порівняно з контролем, тим вища алелопатична активність БАР, що входять до складу тканин листків. Активність водорозчинних екстрактів залежить від концентрації витягів. За результатами досліджень записати висновок.

Робота 40. Дослідження алелопатичної активності летких виділень кімнатних рослин

Мета: визначити алелопатичну активність летких виділень листків різних видів кімнатних рослин.

Обладнання, матеріали, реактиви: чашки Петрі, фільтрувальний папір, ножиці, скоч, термостат, препарувальні голки, міліметровий папір, лінійки, насіння тест-культур.

Основні відомості. Виділення рослинами різноманітних речовин – це активний метаболічний процес, обов'язкова умова нормальної життєдіяльності, яка притаманна всім живим організмам.

Відомо з літератури, що до складу ексудатів рослин переважно в рідкому або газоподібному стані входять різноманітні речовини: цукри, амінокислоти, нуклеїнові й органічні кислоти, фітонциди, мінеральні сполуки, вітаміни, ферменти, пептиди, органічні спирти, алкалоїди, глікозиди, поліфеноли, фітогормони тощо. Здатність рослин виділяти алелопатично активні речовини має сезонний цикл і добову ритмічність, також залежить від екологічних (зовнішніх) та фізіологічних (внутрішніх) чинників. Значний вплив на видільну функцію рослин проявляють: температура, освітлення, вологість, ступінь аерації, рН ґрунту, рівень забезпечення рослин елементами мінерального живлення й ін. До фізіологічних факторів, що істотно впливають на видільну

функцію рослин, належать їх видові та сортові особливості, фаза розвитку, вік особини та окремих органів тощо.

Велике значення на формування алелопатичної активності рослини мають леткі ексудати з її надземних органів. Зокрема, леткі прижиттєві виділення із внутрішніх тканин поступають в атмосферу через продихи або покривні тканини (кутикулу епідерми). Загальна кількість летких екзометаболітів за вегетаційний період рослини може становити до 4 % від її сухої маси. У складі летких екзометаболітів виявлено речовини різноманітної природи, зокрема: фітогормони, терпеноїди, аліфатичні й ароматичні вуглеводні, органічні кислоти, спирти, альдегіди, кетони, складні ефіри, тощо. Леткі речовини можуть виділятися також коренями рослин, набубнявілим насінням, багато їх продукується під час розкладу рослинних решток (посмертні виділення) – це оксикислоти, спирти, альдегіди, кетони.

Проведення роботи

Алелопатичну активність летких виділень листків кімнатних рослин визначаємо методом біотестів за А. М. Гродзинським. У якості тест-об'єктів використовуємо однодобові проростки пшениці м'якої (*Triticum aestivum* L.) або крес-салату (*Lupidium sativum* L.).

При дослідженні біологічної активності летких виділень беруть 1 г свіжої рослинної сировини, кладуть на годинникове скло в центрі чашки Петрі. На її дно ставлять фільтрувальний папір, наливають 5 мл дистильованої води, розкладають по периферії чашки 15 наклюнувших насінин біотесту (пшениці або крес-салату). Чашку Петрі накривають такою ж самою за розміром кришкою і обмотують скочем. Обов'язковою умовою досліду повинна бути повна герметичність посуду. Герметично закриті чашки Петрі ставлять у термостат за температури 24 град. на 24 год. Контролем слугують проростки, вирощені на дистильованій воді. Через 24 год. вимірюють довжину корінців біотестів і визначають їх відсоток до контролю.

Результати дослідження записують у таблицю за схемою

Об'єкт	Довжина корінців біотесту, мм	Відсоток до контролю	Висота стебла біотесту, мм	Відсоток до контролю	Примітка
Контроль					

ТЕМА. СТІЙКІСТЬ РОСЛИН

Робота 41. Виявлення захисної дії цукрів на цитоплазму клітин при низьких температурах

Мета: навчитися виготовляти охолоджуючу суміш, виявити захисну дію цукрів на цитоплазму клітин коренеплода столового буряка при від'ємних температурах.

Обладнання, матеріали, реактиви: мікроскопи, предметні стекла і накривні скельця; бритви; скальпелі; термометр до 25 °С; кристалізатори; шпателі; пробірки; піпетки місткістю 5 і 10 мл; скляні банки місткістю 1 л; воскові олівці; фільтрувальний папір; сніг або лід; кухонна сіль; 1 М розчин сахарози; 8 %-й розчин NaCl; коренеплід столового буряка.

Основні відомості. Здатність рослин переносити температури нижче нуля і при цьому зберігати життєздатність називається морозостійкістю. Морозостійкість є генетично обумовленою ознакою і закладена в спадковій основі організму.

Проте здатність рослин переносити низькі від'ємні температури визначається не тільки спадковою природою рослин, але й залежить від конкретних умов навколишнього середовища. Від'ємні температури завдають основної шкоди рослинному організму в результаті утворення кристалів льоду, як в середині клітин, так і в міжклітинниках. При швидкому зниженні температури кристали льоду утворюються всередині клітини. Вони гострі і пошкоджують мембрани, руйнується також структура цитоплазми, яка є сукупністю пограничних мембран і клітина гине. Коли поступово знижується температура повітря, то кристали льоду спочатку утворюються в міжклітинниках. У цьому випадку вони відтягують воду з клітини і виявляють одночасно механічний тиск на цитоплазму. Якщо клітина не загартувалася, то цитоплазма в результаті зневоднювання і механічного тиску кристалів льоду може загинути.

Підвищити морозостійкість рослин можна шляхом процесів загартування. За І. І. Тумановим, процес загартування рослин відбувається упродовж двох фаз і потребує комплексу умов навколишнього середовища. Важливе значення в підвищенні стійкості

рослин до морозу має накопичення в клітинах розчинних вуглеводів (моносахаридів, дисахаридів та олігосахаридів) під час проходження рослиною першої фази загартування.

У результаті накопичення вуглеводів у клітинах підвищується концентрація і, відповідно, осмотичний тиск, відтак знижується точка замерзання розчинів, зменшується кількість вільної води і цим самим зменшується кількість утворення кристаликів льоду. Накопичення розчинних вуглеводів стабілізує клітинні структури.

Отже, розчинні вуглеводи виконують важливу захисну функцію і підвищують стійкість рослинних клітин до дії морозів.

Проведення роботи

Для досліду використовують коренеплід столового буряка. З нього виготовляють 15 – 18 приблизно однакових за площею (10 мм²) і товщиною (1 мм) зрізів. Для видалення соку з пошкоджених клітин зрізи старанно промивають дистильованою водою. У три пронумерованих пробірки місткістю 20 мл наливають по 5 мл води – в першу пробірку, в другу – 0,5 М розчину сахарози, в третю – 1,0 М розчину сахарози. Після цього у кожену пробірку занурюють по 5 – 6 добре промитих зрізів. Одночасно з цим, у кристалізаторі виготовляють охолоджуючу суміш, яка складається з трьох частин снігу або льоду і однієї частини кухонної солі. Компоненти суміші добре перемішують шпателем, її температура має бути близько 20°C. Усі три пронумеровані пробірки поміщають в охолоджуючу суміш і витримують там упродовж 15 – 20 хв.

По закінченні експозиції пробірки виймають і поміщають в скляні посудини з водою для відтаювання (щоб пробірки з досліджуваними розчинами і зрізами не потріскали, вода повинна бути кімнатної температури). Після відтаювання вмісту пробірок оцінюють забарвлення рідини в них та визначають під мікроскопом на тоненьких зрізах життєздатність клітин шляхом виявлення плазмолізованих в полі зору мікроскопа за впливу 8 % -го розчину NaCl і забарвлення зрізів. Результати досліду записують за такою схемою:

Об'єкти	Варіанти дослідів	Забарвлення розчину	Забарвлення зрізу	Середня кількість плазмолізованих клітин, %

Вода (контроль) Сахароза 0.5М Сахароза 1М				
---	--	--	--	--

Результати дослідження узагальнюють у формі висновків і акцентують увагу про захисний вплив дисахариду сахарози на цитоплазму клітин за дії від'ємних температур.

Робота 42. Визначення жаростійкості рослин (за Ф. П. Мацковим)

Мета: визначити стійкість деяких видів сільськогосподарських рослин до впливу високих температур.

Обладнання, матеріали, реактиви: електрична плитка, водяна баня, кристалізатори, термометри, пінцети, 0,2 н розчин НСІ, листки рослин різних екологічних груп (мезофіти, гігрофіти, гідрофіти, ксерофіти).

Основні відомості. Стійкість рослин до впливу високих температур називають жаростійкістю. Для вегетативних органів більшості культурних рослин лісостепової зони вважається високою температура 40 – 60 °С. За таких температур в органах рослин виникають патологічні порушення метаболізму (обміну речовин). У процесі еволюції в багатьох культурних рослин виробилася пристосування, які підвищують здатність їх переносити високі температури і посуху (помітне зневоднення), оскільки ці несприятливі умови в природі майже завжди одночасно поєднуються.

При оцінці жаростійкості органів рослин враховуються властивості протоплазми протистояти високій температурі. При пошкодженні клітини руйнуються мембрани, коагулюють білки протоплазми і хлоридна кислота, яку використовують у дослідженні, проникає в клітини, витісняє магній з порфіринового ядра молекули хлорофілу, в результаті чого утворюється феофітин (сполука оливково-бурого кольору). Ступінь жаростійкості рослин оцінюють за кількістю утворених бурих плям за п'ятибальною шкалою. Метод рекомендовано застосовувати лише для рослин, клітинний сік яких має нейтральну реакцію.

Проведення роботи

1. Водяну баню на електричній плитці нагрівають до температури 40⁰С і в воду занурюють по 5 пучків з 6 штук листків кожного виду досліджуваних рослин. Через 30 хв. з водяної бані виймають перший пучок і по одному листку кожного виду переносять у кристалізатор із холодною водою.

2. У водяній бані піднімають на 10⁰С температуру води і через 40 хв. після цього беруть другий пучок. Температуру води поступово доводять до 80⁰С, відбираючи пучки через кожні 10⁰С.

3. Охолоджені листки з кожного пучка переносять у 0,2 н розчин хлоридної кислоти і через 20 хв. оцінюють їхнє забарвлення.

4. Жаростійкість досліджуваних рослин визначають за п'ятибальною системою і результати узагальнюють у висновку.

5. Результати дослідження записують у таблицю, використовуючи такі позначення: « – » – відсутність побуріння;

«+» – слабе побуріння;

«++» – понад 50 % побуріло листової поверхні;

«+++» – суцільне побуріння.

Результати оцінки жаростійкості деяких видів сільськогосподарських культур

Види рослин	Ступінь побуріння (пошкодження) при температурі, °С				
	40	50	60	70	80

Робота 43. Вплив концентрації розчину солей на проростання насіння

Мета: виявити вплив різних концентрацій NaCl на проростання насіння та солевитривалість досліджуваних рослин.

Обладнання, об'єкти, реактиви: термостат; чашки Петрі; промитий пісок; фільтрувальний папір; насіння соняшнику, кукурудзи, цукрового буряка, пшениці, огірків, 1 М розчин NaCl.

Основні відомості. Рослини природної та культивованої флори на вплив різних солей у субстратах реагують неоднаково. Деякі з них розвиваються навіть тоді, коли кількість розчинних солей у субстраті

становить 1% і більше. Засолені ґрунти – це ґрунти, що містять у всьому профілі або в його частині легкорозчинні мінеральні солі в кількостях, шкідливих для рослин (понад 0,2-0,25%). Рослини, які ростуть на засолених ґрунтах, називають галофітами (від гр. «галс» – сіль і «фітон» – рослина).

Глюкофіти (від гр. «глюкос» – солодкий) характеризуються дуже помітною чутливістю до впливу солей і не розвиваються на засолених ґрунтах.

У результаті засолення ґрунтів виникає низький водний потенціал, а тому поглинання води рослиною дуже погіршується. Крім цього, висока концентрація солей у ґрунті спричинює глибокі порушення процесів метаболізму в рослині, зокрема, порушується азотний і нуклеїновий метаболізми, накопичується аміак, путресцин, кадаверін та інші токсичні для рослини проміжні продукти.

Проведення роботи

Для вивчення солестійкості культурних рослин і впливу різних концентрацій солей на проростання насіння рекомендовано використовувати такі порівняно стійкі до засолення культури, як просо, цукровий буряк, соняшник, кукурудза і не солестійкі – огірки, помідори. Дослідження впливу різних концентрацій солей на проростання насіння проводять у чашках Петрі на фільтрувальному папері або на промитому кварцовому піску. У першій чашці фільтрувальний папір (50 г піску) змочують 10 мл 1 М розчину NaCl, в другій – 10 мл 0,1 М розчину NaCl, в третій – 10 мл 0,01 М. розчину NaCl, а в четверту – наливають 10 мл водопровідної води (контроль). Після цього насіння вищезазначених культур по 50 шт. кожного виду рівномірно розкладають в чашках Петрі, накривають їх кришками і поміщають у термостат для пророщування при відповідній температурі.

Через тиждень оцінюють вплив різних концентрацій солей на проростання насіння шляхом підрахунку кількості пророслих насінин. Міліметровим папаром вимірюють висоту надземної частини і довжину корінців, знаходять середнє значення з 10 вимірювань. Отримані результати записують у таблицю за такою схемою:

Об'єкт	Концентрація розчину NaCl, м	Кількість пророслих насінин, %	Довжина, мм корінця середнє з 10 рослин	Висота, мм стебельця середнє з 10 рослин
	Вода (контроль)			
	0,001			
	0,1			
	1,0			

На основі отриманих результатів дослідження роблять висновок про вплив різних концентрацій NaCl на проростання насіння певних видів культур та солевитривалість досліджуваних рослин.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Біологічний словник. За ред. К. М. Ситника і О. В. Топачевського. Вид. 2-ге, переробл. і доповн. – К. : ГРУРЕ, 1986. 680 с.
2. Векірчик К. М. Фізіологія рослин . Практикум. К. : Вища школа, 1984. 240 с.
3. Власенко М. Ю., Вельямінова – Зернова Л. Д., Мацькевич В. В. Фізіологія рослин з основами біотехнології : Підручник. Біла Церква, 2006. 504 с.
4. Гродзинский А. М., Гродзинский Д. М. Краткий справочник по физиологии растений. К. : Наук. думка, 1973. 591 с.
5. Гродзинський А. М. Основи хімічної взаємодії рослин. К. : Наук. думка, 1973. 205 с.
6. Злобін Ю. А. Курс фізіології і біохімії рослин: Підручник. Суми: ВТД «Університетська книга», 2004. 464 с.
7. Мусієнко М. М. Фізіологія рослин. К. : Либідь, 2005. 808 с.
8. Негода О. В. Лабораторний практикум з дисципліни «Фізіологія рослин» для студентів аграрних університетів. К. : Фітосоціоцентр, 2003. 112 с.
9. Пида С.В. Фізіологія рослин. Робочий зошит з навчальної практики для студентів спеціальності 014.05 Середня освіта «Біологія» денної форми навчання. 3-тє вид. допов. і змін. Тернопіль : Вектор, 2019. 80с.
10. Пида С., Москалюк Н. Практикум з фізіології рослин : навч. посіб., Тернопіль : ФОП Осадца Ю. В., 2022. 174 с.
11. Проценко Д. П., Білокінь І. П., Мінінберг С. Я., Поліщук Л. К. Практикум з фізіології рослин з основами мікробіології. За ред. Д. П. Проценка. К. : Радянська школа, 1959. 234 с.
12. Терек О. І. Ріст рослин : Навч. посібник Львів: Видавничий центр ЛНУ ім. Івана Франка , 2007. 248 с.
13. Універсальний словник-енциклопедія / М. Попович, І. Дзюба, Н. Корнієнко та ін. К.-Львів, 2001. 313 с.
14. Экспериментальная аллелопатия / А. М. Гродзинский, Э. А. Головки, С. А. Горобец и др. К., 1987. 226 с.
15. Юрчак Л. Д. Аллелопатія в агробіоценозах ароматичних рослин. К. : Фітосоціоцентр, 2005. 411 с.

НАВЧАЛЬНИЙ ПОСІБНИК

ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН
Лабораторний практикум

Адреса закладу: 46001, м. Тернопіль, вул. Січових Стрільців 13,
тел (0352) 25-95-76, факс:(0352) 25-88-25,
E-mail: manternopil@ukr.net
Веб-сайт: <http://ман.укр>