

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
УМАНСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ САДІВНИЦТВА**

КАФЕДРА БІОЛОГІЇ

ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН

Методичні рекомендації до виконання лабораторних робіт студентами першого рівня вищої освіти (бакалавр) спеціальності 202 «Захист і карантин рослин» та 203 «Садівництво, плодоовочівництво та виноградарство»

Методичні вказівки підготували:

В. П. Карпенко – доктор с.-г. наук, професор кафедри біології Уманського національного університету садівництва;

Р. М. Притуляк – кандидат с.-г. наук, доцент кафедри біології Уманського національного університету садівництва.

Розглянуто і затверджено на засіданні кафедри біології (протокол від 6 серпня 2024 року № 1).

Схвалено науково-методичною комісією факультету плодоовочівництва, екології та захисту рослин

Протокол від 9 серпня 2024 року № 1

Рецензент

С. В. Пида – доктор с.-г. наук, професор, завідувач кафедри ботаніки та зоології Тернопільського національного університету імені Володимира Гнатюка.

Карпенко В. П., Притуляк Р. М.

Фізіологія рослин. Методичні вказівки до виконання лабораторних робіт студентами першого рівня вищої освіти (бакалавр) спеціальності 202 «Захист і карантин рослин» та 203 «Садівництво, плодоовочівництво та виноградарство». Умань, 2024. 58 с.

ЗМІСТ

ПЕРЕДМОВА	5
РОЗДІЛ 1. ЗАГАЛЬНА ОРГАНІЗАЦІЯ І ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИННОЇ КЛІТИНИ	6
Робота № 1 Явище вибіркової проникності протоплазми.	6
Робота № 2 Зміна проникності цитоплазми при ушкодженні	7
Робота № 3 Проникність живої і мертвої протоплазми для речовин клітинного соку	8
Контрольні запитання до розділу «ЗАГАЛЬНА ОРГАНІЗАЦІЯ І ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИННОЇ КЛІТИНИ»	10
РОЗДІЛ 2. СТРУКТУРА І ФУНКЦІЇ БІОМАКРОМОЛЕКУЛ	10
Робота № 4 Визначення запасних поживних речовин	10
Робота № 5 Перетворення запасних речовин при проростанні насіння	11
Робота № 6 Виявлення амілази у проростаючому насінні	12
Контрольні запитання з розділу «СТРУКТУРА І ФУНКЦІЇ БІОМАКРОМОЛЕКУЛ».	
РОЗДІЛ 3. ВОДНИЙ ОБМІН РОСЛИН	14
Робота № 7 Визначення всмоктувальної сили листків рефрактометричним методом	14
Робота № 8 Визначення вмісту води і сухої речовини у рослинному матеріалі	15
Робота № 9 Визначення осмотичного тиску клітинного соку методом плазмолізу (за Де-Фрізом)	17
Робота № 10 Залежність інтенсивності транспірації листків рослин від навколишніх умов	18
Робота № 11 Залежність набухання насіння від типу запасних речовин	20
Робота № 12 Порівняння транспірації верхнього і нижнього боку листка за допомогою хлоркобальтового паперу (за Шталем)	21
Контрольні запитання до розділу «ВОДНИЙ ОБМІН РОСЛИН»	22
РОЗДІЛ 4. МІНЕРАЛЬНЕ ЖИВЛЕННЯ РОСЛИН	22
Робота № 13 Напівкількісний метод визначення нітратів у рослинах	22
Робота № 14 Виявлення нітратів в різних органах рослин	23
Робота № 15 Діагностика потреби рослин в основних елементах мінерального живлення (за М. І. Вигоровим)	24
Робота № 16 Хімічний аналіз соку рослин (за К. П. Магніцьким)	28
Робота № 17 Визначення загальної і робочої адсорбційної поверхні кореневої системи рослин (за методом Сабініна і Колосова)	30

<i>Контрольні запитання до розділу «МІНЕРАЛЬНЕ ЖИВЛЕННЯ РОСЛИН»</i>	32
РОЗДІЛ 5. ФОТОСИНТЕЗ	33
Робота № 18 Пігменти зеленого листка	33
Робота № 19 Оптичні властивості пігментів	35
Робота № 20 Визначення вмісту хлорофілу в листках за допомогою фотоелектроколориметра	36
Робота № 21 Фотосенсибілізуюча дія хлорофілу на реакцію перенесення водню (за Гуревичем)	37
Робота № 22 визначення чистої продуктивності фотосинтезу	39
Робота № 23 Визначення площі листків рослин	40
Робота № 24 Визначення масової частки зелених пігментів (суми хлорофілів «а» і «b») у листках рослин	42
<i>Контрольні запитання до розділу «ФОТОСИНТЕЗ»</i>	44
РОЗДІЛ 6. ДИХАННЯ	44
Робота № 25 Визначення дихального коефіцієнту проростаючого насіння різних рослин	44
Робота № 26 Визначення інтенсивності дихання за кількістю виділеного діоксиду вуглецю (за Бойсен – Іенсенем)	47
Робота № 27 Визначення виділеного тепла при диханні насіння, що проростає	48
Робота № 28 Визначення порівняльної активності дегідрогеназ в різних рослинних тканинах	50
Робота № 29 Виявлення поліфенолоксидази і пероксидази в рослинних об'єктах	50
<i>Контрольні запитання до розділу «ДИХАННЯ»</i>	52
РОЗДІЛ 7 ФІЗІОЛОГІЯ ОНТОГЕНЕЗУ	52
Робота № 30 Визначення зон росту органів рослин	52
Робота № 31 Визначення росту за допомогою горизонтального мікроскопа.	53
<i>Контрольні запитання з розділу «ФІЗІОЛОГІЯ ОНТОГЕНЕЗУ»</i>	54
РОЗДІЛ 8. ПРИСТОСУВАННЯ ТА СТІЙКІСТЬ РОСЛИН ДО НЕСПРИЯТЛИВИХ ЗОВНІШНІХ ФАКТОРІВ.	55
Робота № 32 Виявлення захисної дії цукрів на цитоплазму клітин при заморожуванні	55
Робота № 33 Визначення жаростійкості рослин (за Ф. Ф. Мацковим)	56
<i>Контрольні запитання з розділу «ПРИСТОСУВАННЯ ТА СТІЙКІСТЬ РОСЛИН ДО НЕСПРИЯТЛИВИХ ЗОВНІШНІХ ФАКТОРІВ»</i>	57
ЛІТЕРАТУРА	58

ПЕРЕДМОВА

Фізіологія рослин – наука про функціональну активність рослинних організмів і механізми процесів рослинних систем різних рівнів їх організації – від субклітинних структур до цілісних рослин. Фізіологія рослин досліджує структуру і функції рослинного організму, механізми мінерального живлення, фотосинтезу, транспорту речовин, дихання, системи регуляції й інтеграції окремих елементарних реакцій до рівнів фізіологічної функції, водний режим, механізми росту, розвитку та їх регуляції, вплив факторів середовища та природу стійкості рослин до несприятливих умов довкілля.

Мета дисципліни – формування у здобувачів вищої освіти комплексу знань, умінь і навичок для професійної діяльності у сфері захисту і карантину рослин, плідництва, овочівництва та виноградарства та вирішення спеціалізованих практичних проблем аграрного виробництва.

Завдання – сформувати у студентів теоретичну основу фізіологічних процесів рослин для удосконалення існуючих і розробки новітніх технологій вирощування сільськогосподарських культур та регулювання їх продукційного процесу і підвищення якості продукції.

Вивчення навчальної дисципліни «Фізіологія рослин» передбачає формування та розвиток у здобувачів компетентностей і програмних результатів навчання відповідно до освітньо-професійних програм.

РОЗДІЛ 1 ЗАГАЛЬНА ОРГАНІЗАЦІЯ І ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИННОЇ КЛІТИНИ

РОБОТА № 1 ЯВИЩЕ ВИБІРКОВОЇ ПРОНИКНОСТІ ПРОТОПЛАЗМИ.

Матеріали та обладнання: 1) луски епідермісу синьої цибулі чи листки традесканції; 2) 1 М розчин $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ у крапельниці; 3) мікроскоп; 4) предметне і накривне скельце; 5) препарувальна голка; 6) лезо бритви; 7) смужки фільтрувального паперу; 8) спиртівка; 9) сірники.

Основні відомості. Несталість співвідношення концентрації солі всередині клітини до концентрації тієї ж солі у навколишньому розчині свідчить про вибіркового характеру проникності живої протоплазми. Особливо яскраво явище вибіркового проникності виявляється при проникненні через протоплазму у клітинний сік води і розчинених у ній речовин. Якщо клітину помістити у міцний розчин якоїсь нешкідливої речовини (цукру, KNO_3 , $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ тощо), то під мікроскопом можна спостерігати, як клітина насамперед скоротиться в об'ємі, а потім мішечок протоплазми стане потроху відшаровуватися від оболонки (рис. 2, б). У подальшому ділянок, де протоплазма відокремлюється від оболонки, стає все більше (в), потім протоплазма може повністю відокремитися від оболонки, являючи собою невеликий кулястий шматочок (г, д, е). Отже, вода швидше виходить із клітини, ніж надходить у вакуолю розчинена речовина. У результаті концентрація клітинного соку зростає, і клітина таким чином утримує рівновагу з концентрованим зовнішнім розчином. Явище відставання протоплазми від оболонки одержало назву плазмолізу.

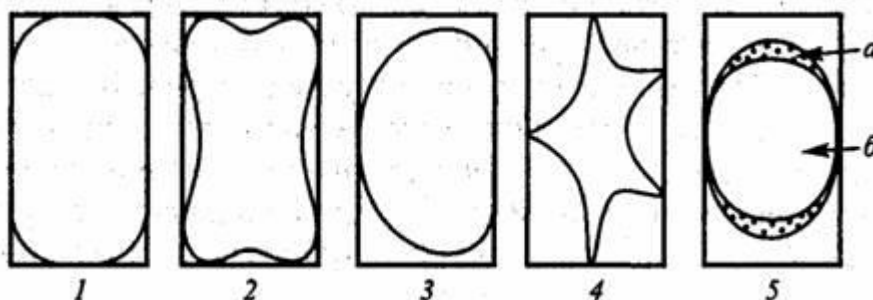


Рис. 2. Форми плазмолізу:

1 - клітина в нормальному стані; 2, 3, 4, 5, е - відповідно увігнутий, опуклий, спазматичний і ковпачковий плазмолізи

Коли плазмолізовану клітину оточити чистою водою, то через легку проникність протоплазми для води і непроникності її для розчинених у клітинному соці речовин вакуоля збільшує свій об'єм. Плазма, що обволікаючи її, збільшиться в об'ємі і приляже до оболонки, тобто настане деплазмоліз. Подальше насмоктування води приведе до максимального збільшення об'єму протоплазми, целюозна оболонка клітини опиниться у напруженому стані, який має спеціальну назву – тургор.

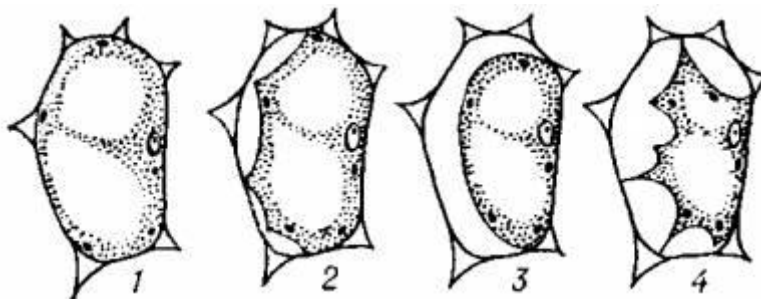


Рис. 3. Етапи плазмолізу:

1. При додаванні розчину солі цитоплазма починає стискатися.
- 2, 3. Відділення цитоплазми від стінок клітини під час виходу води в розчин солі за рахунок дифузії та осмосу
4. Відбувається руйнування та загибель клітини.

Мета роботи – показати вибіркочу проникність протоплазми за допомогою явищ плазмолізу і деплазмолізу та навчитися розрізняти різні форми плазмолізу.

Хід роботи. Для дослідження явища вибіркової проникності протоплазми роблять тонкі зрізи епідермісу синьої цибулі чи нижньої частини центральної жилки листків традесканції. Зрізи кладуть на предметне скло у краплю води, накривають накривним склом і розглядають під мікроскопом — спочатку при малому, а потім при великому збільшенні. Замальовують у зошиті клітини у стані тургору.

Не знімаючи препарату з предметного скла, з одного боку накривного скла наносять кілька крапель розчину плазмолітика — $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, а з другого прикладають смужку фільтрувального паперу, щоб відтягнути воду і увести розчин плазмолітика до клітин. При цьому весь час стежать під мікроскопом за тим, що відбувається у клітинах. Через 1-2 хв можна спостерігати явище плазмолізу. Замальовують плазмолізовані клітини, визначають ступінь та форму плазмолізу.

Потім на край накривного скла капають кілька крапель води і смужкою фільтрувального паперу протягують її через зріз. Таку операцію повторюють кілька разів, поки вода не збільшить об'єм клітинного соку і цитоплазма не притиснеться знову до стінки клітини. Явище переходу клітини із стану плазмолізу в стан тургору і буде деплазмолізом.

У кінці досліду препарат обережно нагрівають над полум'ям спиртівки, стежачи, щоб вода повністю не випарувалася. Воду замінюють плазмолітиком і встановлюють, чи відбувається плазмоліз. Роблять висновок про рівень проникності протоплазми для води і розчину $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$.

РОБОТА № 2

ЗМІНА ПРОНИКНОСТІ ЦИТОПЛАЗМИ ПРИ УШКОДЖЕННІ.

Матеріали і обладнання: 1) штатив з п'ятьма пробірками; 2) коркове свердло діаметром 5–7 мм; 3) лінійка; 4) піпетка на 10 мл; 5) ФЕК; 6) столовий

буряк; 7) хлороформ; 8) 30%-ний розчин оцтової кислоти; 9) 50%-ний розчин етилового спирту; 10) 1М розчин KNO_3 ; 11) мікроскоп.

Основні відомості. Вибіркова проникність – властивість живої цитоплазми зберегти постійність середовища у середині клітини. При ушкодженні клітини цитоплазма втрачає цю властивість і речовини, які знаходяться в клітинному соку, вільно виходять назовні. Ступінь пошкодженості корелює з кількістю речовини, що виділилися у водне середовище. Тому інтенсивність виходу речовин із клітини служить критерієм її ушкодження.

Мета роботи. Визначити ступінь пошкодження цитоплазми клітин за кількістю виділеного бетаціаніну.

Хід роботи. Із обчищеного коренеплоду очищеного буряка корковим свердлом вирізають циліндри висотою 1–1,5 см, старанно промивають під струменем водопровідної води і вміщують по одному в кожну із п'яти пробірок, де налито по 5–10 мл різних розчинів у відповідності із схемою досліду: 1) вода кімнатної температури; 2) після кип'ятіння; 3) вода + хлороформ; 4) 30%-на оцтова кислота; 5) 50%-ний спирт.

Варіант з кип'ятінням готують таким чином: в пробірку з водою вкидають один із циліндрів і кип'ятять. Через 1–1,5 хвилини шматочок виймають, охолоджують і опускають знову в пробірку, яка містить по 10 мл холодної водопровідної води. Через 30 хвилин після початку досліду всі пробірки інтенсивно струшують і порівнюють кількість пігменту, який вийшов з клітини, в різних варіантах з допомогою фотоелектроколометра при зеленому світлофільтрі. Показники оптичної густини дослідних розчинів записати в таблицю в робочому зошиті.

Інтенсивність забарвлення спів ставляють за показниками оптичної густини дослідних розчинів.

На основі даних спостережень роблять відповідні висновки.

РОБОТА № 3 **ПРОНИКНІСТЬ ЖИВОЇ І МЕРТВОЇ ПРОТОПЛАЗМИ ДЛЯ РЕЧОВИН** **КЛІТИННОГО СОКУ.**

Матеріали та обладнання: 1) коренеплід червоного буряка; 2) 30%-на оцтова кислота; 3) 50%-й етиловий спирт; 4) фарфорова чашка; 5) скальпель; 6) пінцет; 7) штатив із пробірками; 8) спиртівка; 9) сірники.

Основні відомості. Різні речовини проникають у протоплазму, а через неї у вакуолю з неоднаковою швидкістю. Здатність протоплазми пропускати через себе певні речовини названо проникністю. Оскільки протоплазма легко пропускає воду і є майже непроникною для розчинених у ній речовин, то за своїми властивостями вона належить до напівпроникних перетинок.

Проникність не можна розглядати як пасивне входження у клітину елементів із навколишнього середовища. Установлено, що вирішальна роль у регулюванні проникності належить диханню, однією із функцій якого є

забезпечення клітини вільною хімічною енергією. Саме завдяки затратам енергії активний транспорт через мембрану всередину клітини стає можливим навіть годі, коли концентрація даної речовини у клітині вища, ніж зовні.

Надходження речовин в неживі клітини підпорядковано зовсім іншим законам, ніж у живі. На відміну від дії специфічних активних механізмів у останніх, проникнення речовин через мертву протоплазму прискорюється у сотні і тисячі разів і зумовлюється в основному процесами дифузії та осмосу.

Мета роботи – встановити швидкість проникнення речовин клітинного соку через живу і мертву протоплазму. Коагуляції колоїдів протоплазми можна досягти дією високої температури, отруйних речовин, солей важких металів тощо.

Хід роботи. Із свіжого очищеного коренеплоду буряка вирізують чотири кубики із стороною до 1 см. Кубики кладуть у фарфорову чашку і багато разів промивають водопровідною водою до того часу, поки припиниться виділення забарвленого соку. До початку досліду в одну пробірку наливають воду, занурюють кубик і кип'ятять 3 хв., щоб убити клітини. Потім гарячу воду зливають, а кубик промивають холодною водою.

Дослід проводять так. У першу пробірку наливають 5 мл води і занурюють свіжий кубик. У другу – 5 мл води і вбитий кип'ятінням кубик. У третю – 5 мл 30%-ї оцтової кислоти і свіжий кубик. У четверту пробірку – 5 мл етилового спирту і свіжий кубик.

Через 30-40 хв. пробірки збовтують і порівнюють забарвлення рідини у них. Результати записують у таблицю і роблять висновки про проникність живих і мертвих клітин:

Варіант досліду	Інтенсивність забарвлення рідини	Висновок про проникність
Водопровідна вода		
Кип'ятіння		
30 % - на оцтова кислота		
50 % спирт		

КОНТРОЛЬНІ ЗАПИТАННЯ

з розділу:

"ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИННОЇ КЛІТИНИ"

1. Клітина як носій життя. Характерні властивості живої матерії.
2. Фізико - хімічні основи енергетики рослинної клітини.
3. Будова рослинної клітини.
4. Клітинна стінка, її хімічний склад, структура і функції.
5. Фізико-хімічні властивості протоплазми, її динамізм.
6. Клітинне ядро, його будова і функції.
7. Хімічний склад і функції рибосом.
8. Хлоропласти, їх будова і функції.
9. Будова і функції мітохондрій.
10. Біологічні мембрани, їх будова і функції. Плазмолема і тонопласт.
11. Ендоплазматична сітка і її функції.
12. Основні функції рослинного організму.

РОЗДІЛ 2 **СТРУКТУРА І ФУНКЦІЇ БІОМАКРОМОЛЕКУЛ**

РОБОТА № 4 **ВИЗНАЧЕННЯ ЗАПАСНИХ ПОЖИВНИХ РЕЧОВИН**

Матеріали та обладнання: 1) набубнявілі плоди різних рослин; 2) коренебульби жоржини, бульби картоплі і земляної груші; 3) коренеплоди моркви; 4) цибуля; 5) мікроскоп; 6) мілонів реактив; 7) судан-3; 8) йод міцний в крапельниці; 9) реактив Фелінга за Пастером; 10) ланцет; 11) пінцет; 12) леза бритви; 13) препарувальна голка; 14) предметні та накривні скельця.

Основні відомості. Запасні речовини, що відкладаються в різних органах (вмістилищах) рослини, різні за хімічною природою. Але основними є три групи: безазотисті речовини-вуглеводи, жири і азотисті речовини-білки. Крім запасних речовин, зустрічаються глікозиди, алколоїди, фосфатиди, дубильні речовини і ін.

За вмістом запасних речовин насіння рослин можна розділити на три групи: олійні, крохмалисті і ті, що містять велику кількість білка.

Мета роботи – за допомогою якісних реакцій виявити у рослинних зразках білки, жири, вуглеводи.

Хід роботи. Беруть набубнявіле насіння різних рослин, плоди, коренеплоди і інші вмістилища запасних поживних речовин в рослини:

- для відкриття глюкози і фруктози використовують такі об'єкти: коренеплід моркви, цибулину, плоди груші або винограду;
- для відкриття крохмалю – плоди каштану, бульби картоплі;
- для відкриття інуліну – коренебульби жоржини, бульби земляної груші.
- для відкриття жирів – насіння рицини;
- для відкриття – насіння жовтого люпину і інших бобових, насіння рицини (після екстрагування жиру ефіром).

Реакції проводять із зрізами на предметному склі. Для кожної реакції беруть свіжий зріз.

1. Реактивом на крохмаль є розчин йоду в йодистому калії. На зріз (наприклад картоплі) наносять краплю цього розчину. Зріз, що містить крохмаль, забарвлюється в синій колір.
2. Для відкриття інуліну шматочки коренебульби (жоржини або бульби земляної груші) кладуть на 14 днів (не менше) в 50% спирт. Потім роблять зрізи і роздивляються їх в мікроскоп. На стінках клітин можна побачити сферокристали інуліну.
3. Для відкриття глюкози або фруктози використовують рідину Фелінга, приготовлену за рецептом Постера. Зрізи потрібно брати не дуже тонкі (3–4 шари непошкоджених клітин). Після приготування зрізів їх споліскують у воді, потім кладуть на предметне скло в каплю розведеної фелінгової рідини і обережно нагрівають. При наявності відновлюючих цукрів утворюється червоний осад закису міді.

4. Жири можна відкрити двома реактивами: а) спиртовим настоєм кореня алькану; б) осміевою кислотою. Жири також можна відкрити реактивом судан-3. Зрізи занурюють в краплю реактиву, накривають накривним скельцем і роздивляються в мікроскоп. Крапельки жиру, що витікають із тканин; забарвлюється в морквяний колір. В мікроскопові крапельки жиру буде видно без фарбування.
5. Для відкриття білків проводять реакцію з Мілоновим реактивом на предметне скло наносять краплю свіжоприготовленого Мілонового реактиву, в неї занурюють зріз і обережно нагрівають. В присутності білка зріз забарвлюється в м'ясо - червоний колір.

Після виконання аналізу запасних речовин замальовують зерна крохмалю, сферокристали інуліну, краплі жиру. Роблять відповідні висновки.

РОБОТА № 5 **ПЕРЕТВОРЕННЯ ЗАПАСНИХ РЕЧОВИН ПРИ ПРОРОСТАННІ** **НАСІННЯ**

Матеріали та обладнання: 1) сухе і проросле насіння; 2) реактив Фелінга; 3) розчин і в КІ в крапельниці (концентрований розчин розбавлений в три рази); 4) розчин барвника судан - 3 в крапельниці; 5) ступка фарфорова; 6) водяна баня; 7) пробірки (8 шт.); 8) скальпель (4 шт.); 9) препарувальна голка; 10) скляна паличка; 11) спиртівка; 12) тримач для пробірок; 13) бритва; 14) предметні та накривні скельця; 15) мікроскоп; 16) фільтрувальний папір; 17) сірники.

Основні відомості. Насіння містить велику кількість запасних речовин-білків, жирів, вуглеводів, тощо. В насінні одних рослин, наприклад рицини, соняшника і інших жири переважають над вуглеводами (насіння олійних культур); в інших, наприклад, злаків, основною запасною речовиною є крохмаль.

При проростанні насіння складні запасні речовини за допомогою ферментів перетворюються в більш прості, які використовуються в процесі життєдіяльності рослин.

Для того, щоб встановити яких перетворень зазнають запасні речовини при проростанні, потрібно порівняти хімічний склад непророслого насіння і проростків, що вирости з цього насіння.

Пророщування проводять в темряві, щоб виключити утворення нових органічних речовин в процесі фотосинтезу.

Мета роботи – порівняти хімічний склад непророслого насіння і проростків, що з нього вирости і на основі цього зробити висновок про те, яких перетворень зазнають запасні речовини при проростанні.

Хід роботи. Розтирають в 4-х ступках непророслі і пророслі плоди. Перед подрібненням з плодів бажано зняти шкірочку. Досліджуваний матеріал розміщують в різні пробірки, з наклеєними етикетками, заливають невеликою кількістю води, нагрівають в кип'ячній водяній бані. Зливають витяжки в чисті пробірки (також з етикетками), приливають рівний об'єм реактиву Фелінга і доводять до кипіння. За кількістю Cu_2O , що утворився, дають оцінку вмісту

відновлених (редуючих) цукрів. До матеріалу, що залишився в пробірках, приливають розчин йоду і за інтенсивністю посиніння судять про вміст крохмалю.

Роблять тонкі зрізи непророслих і пророслих плодів ліщини, ставлять на предметне скло в краплю розчину барвника судан-3, накривають накривним скельцем. Через 5 хв, зрізи промивають водою, розглядають в мікроскоп і дають оцінку вмісту жиру – за кількістю і розмірами крапель, забарвлених в червоний або оранжевий колір.

Для мікроскопіювання крохмалистих плодів каштану беруть препарувальною голкою з розрізаного плоду крупинку борошна (ендосперму), розтирають в краплі води на предметному склі, роздивляються при великому збільшенні і замальовують крохмальні зерна (в пророслих плодах – на різних стадіях розпаду).

Результати записують в таблицю, оцінюючи вміст крохмалю, цукру і жиру за п'ятибальною системою.

Плоди	Крохмаль	Редукуючі цукри	Жир
Крохмалисті сухе			
Крохмалисті проросле			
Олійні сухі			
Олійні пророслі			

Примітка: В зв'язку з тим, що кількість жирів в крохмальному насінні невелика і в цій роботі не визначається в таблиці дається оцінка вмісту цих речовин.

Роблять висновки про перетворення вуглеводів і жирів при проростанні крохмалистого насіння і багатого на жири.

РОБОТА № 6 **ВИЯВЛЕННІ АМІЛАЗИ У ПРОРОСТАЮЧОМУ НАСІННІ**

Матеріали і обладнання: 1) пророслі і непророслі плоди каштану насіння злакових культур; 2) чашка Петрі з крохмальним агаром; 3) скальпель; 4) пінцет; 5) крапельниця з водою; 6) слабкий розчин і в КІ (концентрований розчин, розбавлений в 10 раз).

Основні відомості. Ферменти можуть діяти не тільки в тій клітині, яка їх синтезує, але й поза нею, переміщаючись в інші клітини або виділяючись в зовнішнє середовище. Щоб спостерігати швидке виділення ферментів з клітин насіння злаків потрібно розрізати зернівки, тому що насінева шкірочка і оплодень перешкоджають дифузії речовин.

В цій роботі вивчається позаклітинна дія амілази на крохмаль. В рослинах зустрічаються дві амілази: α -амілаза, яка викликає розпад молекули крохмалю на великі осколки (декетрини) і β -амілаза, яка відщеплює від крохмалю кінцеві залишки мальтози. В сухому насінні пшениці, жита і ячменю знаходиться тільки β -амілаза, причому майже вся вона зв'язана з білками. При проростанні

β -амілаза переходить із зв'язаного стану у вільний і, крім того, відбувається синтез α -амілази.

Мета роботи – за інтенсивністю синього забарвлення крохмальної пластинки після знаходження на ній пророслого та непророслого насіння зробити висновок про діяльність амілази.

Хід роботи. Розрізають декілька непророслих плодів чи зерен навпіл, злегка змочують водою і розкладають пінцетом на одній половині пластинки з крохмального агару поверхнею зрізу донизу, не вдавлюючи зразки в пластинку. На другу половину агарової пластинки поміщають декілька пророслих плодів чи насіння тієї ж рослини, також розрізаних навпіл і змочених водою (бажано залишити на деяких пророслих насінинах корінчики і прикласти їх до поверхні крохмального агару). Чашку накривають кришкою, щоб не було підсихання. Через годину обережно знімають зразки і обливають всю пластинку слабким розчином йоду. Відмічають результат і дають відповідь на слідуючі запитання:

- 1) яку дію виявило насіння на пластинку ?
- 2) чому пророслі і непророслі зразки виявили неоднакову дію?

КОНТРОЛЬНІ ЗАПИТАННЯ з розділу **«ПЕРЕТВОРЕННЯ І РУХ ОРГАНІЧНИХ РЕЧОВИН У РОСЛИН»**

1. Основні особливості метаболітичних процесів.
2. Загальна характеристика і класифікація амінокислот їх обмін.
3. Білки, їх структура та класифікація.
4. Функції білків.
5. Нуклеїнові кислоти, їх будова, функції і локалізація в клітині.
6. Біосинтез білка в клітині.
7. Регуляція синтезу білка в клітині.
8. Дисиміляція білків.
9. Ферменти як біологічні каталізатори.
10. Будова ферментів і їх властивості.
11. Номенклатура і класифікація ферментів.
12. Характеристика класів ферментів.
13. Механізм дії ферментів.
14. Кінетика ферментативних реакцій. Рівняння Міхаеліса-Ментен.
15. Залежність активності ферментів від умов середовища.
16. Активатори і інгібітори ферментів.
17. Локалізація ферментів у клітині.
18. Регуляція активності ферментів.
19. Характеристика і значення вуглеводів.
20. Біосинтез і взаємоперетворення вуглеводів.
21. Ліпіди, їх склад, класифікація і функції.
22. Біосинтез і розпад жирів.
23. Зв'язок між перетворенням вуглеводів і жирів.

24. Вітаміни, класифікація і фізіологічна роль.
25. Речовини вторинного походження.
26. Відкладання запасних речовин у вегетативних органах дерев.
27. Методи виявлення запасних речовин в насінні і тканинах деревних рослин.
Захисні речовини.
28. Біологічна роль живиці, дубильних речовин, алкалоїдів, глюкозидів та фенольних сполук.
29. Фітонциди.

РОЗДІЛ 3 ВОДНИЙ ОБМІН РОСЛИН

РОБОТА № 7 ВИЗНАЧЕННЯ ВСМОКТУВАЛЬНОЇ СИЛИ ЛИСТЯ ДЕРЕВНИХ ПОРІД РЕФРАКТОМЕТРИЧНИМ МЕТОДОМ

Матеріали та обладнання: 1) 1 М розчин сахарози; 2) рослинні об'єкти: листки, коренеплоди; 3) пробірки (8–1 шт) на 15–20 мл; 4) пробірки 8–10 шт); 5) коркове свердло; 6) скляна паличка; 7) промивалка; 8) чисті сухі ганчірки; 9) етиловий спирт.

Основні відомості. Метод базується на тому, що при зануренні шматочків рослинних тканин у розчин сахарози певної концентрації, остання змінюється (збільшується чи зменшується) внаслідок обміну водою між клітинами і розчином. Зміна концентрації призводить до змін показника заломлення розчину, який визначається за допомогою рефрактометра.

Той розчин, який після перебування в ньому шматочків рослинної тканини не змінив свою концентрацію, і, відповідно, і показник заломлення, слід вважати ізотонічним до сісної сили тканини.

Мета роботи – дослідити всмоктувальну силу листя рослин через визначення зміни концентрації сахарози за допомогою рефрактометра.

Хід роботи. Готують ряд розчинів сахарози з наступними показниками концентраціями: 1,0; 0,9; 0,8; 0,7; 0,6; 0,5; 0,4; 0,3; 0,2 та 0,1 г-моль в 1 л.

Для виготовлення розчинів слугує молекулярний розчин сахарози. В окремі пробірки готують по 10 мл кожного розчину. Потім з кожної пробірки беруть по 0,5 мл розчину в маленькі пробірки об'ємом 3–4 мл.

Далі вирізають корковим свердлом кружечки листка, стебла або коренеплоду (коренеплід товщиною близько 1 мм.), занурюють в кожну з пробірок по 3 кружечки та залишають їх в розчині на 40 хв. За цей час за допомогою рефрактометра вимірюють (повторюючи кілька раз) показник заломлення усіх вихідних розчинів).

Через 40 хвилин вимірюють показник заломлення розчинів, в які були занурені кружечки тканин.

Метод визначення концентрації розчинів цукру за допомогою рефрактометра оснований на неоднаковому заломленні променя світла, що проходить через розчини з різною концентрацією цукрів.

В більш концентрованих розчинах показник заломлення збільшується в порівнянні з вихідним розчином, в менш концентрованих стає меншим.

Той розчин, який не змінив показника заломлення, i , відповідно, і концентрації, беруть за ізотонічний. Знаючи його концентрацію, вираховують осмотичний тиск розчину в атмосферах, що відповідає сисній силі тканин за формулою:

$$P = R \times c \times T \times i, \text{ де}$$

P – сисна сила рослинного зразка, атм;

R – універсальна газова стала = 0,0821;

T – температура, рахуючи від абсолютного нуля ($T = 273 + t^\circ$);

C – ізотонічна концентрація клітинного соку;

I – ізотонічний коефіцієнт, показник відносної осмотичної сили розчину (порівняно з сахарозою, осмотична сила якої при розчиненні грам-молекули в 1 л прийнята за 1). Для NaCl ізотонічний коефіцієнт = 1,5.

Порядок запису розрахунків по рефрактометру:

Концентрація вихідного розчину, г-моль в 1 л.	Показники заломлення розчинів на початку дослідів	Середній показник заломлення розчину до початку дослідів	Показники заломлення розчинів після дослідів	Середній показник заломлення розчину після дослідів
1,0				
0,9				
0,8				
0,7				
0,6				
0,5				
0,4				
0,3				
0,2				
0,1				

РОБОТА № 8 **ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ ВОДИ І СУХОЇ РЕЧОВИНИ У РОСЛИННОМУ МАТЕРІАЛІ**

Матеріали та обладнання: 1) аналітичні терези; 2) сушильна шафа; 3) металеві бюкси; 4) ексікатор; 5) тигельні щипці; 6) досліджувані рослини.

Основні відомості. Ступінь обводнення тканин рослин є одним із істотних показників їх водного режиму. З вмістом води пов'язані концентрація клітинного соку, водний потенціал окремих органів рослини, відношення їх до ґрунтової і атмосферної посухи. Визначення вмісту води в листках дає

можливість вивчити еколого-фізіологічні особливості рослини, розкрити механізм їх адаптації до умов середовища.

Вміст води в рослинних тканинах звичайно розраховують у відсотках від їх сухої або сирої маси. Різні за посухостійкістю рослин відрізняється характером водообміну. Вологолюбні види і сорти мають високий вміст води при достатній кількості її в ґрунті, але швидко втрачають воду при зниженні вологості ґрунту. У більш стійких до посухи форм рослин вміст води, як правило, нижчий, але її кількість більш стійка.

Мета роботи – визначити вміст води та сухих речовин у рослинних зразках, порівнюючи їх масу до та після висушування.

Хід роботи. Кількість води і сухої речовини в листках визначається ваговим методом. Беруть лише нормально розвинені зелені, які не мають явних слідів пошкодження і підсихання, листки одного ярусу. Кожне визначення проводять в 2-3 разовому повторенні при наважці свіжих листків не менше 1г. Пробу потрібно брати якнайшвидше, щоб запобігти втрат воді на повітрі.

Чистий металевий бюкс разом з відкритою кришкою кладуть у сушильну шафу та витримують там протягом 1 год. при температурі 105°C. Висушений бюкс виймають тигельними щипцями з сушильної шафи і поміщають в ексикатор на 30 хвилин, після чого його зважують. Для контролю бюкс з ексикатора знову ставлять у сушильну шафу на 1 годину і знову зважують. Масу бюкса визначають на аналітичних терезах з точністю до 0,0001 г. Коли маса бюкса буде сталою, в його вміщують пробу для аналізу. Сирий матеріал у бюксі повинен лежати нещільно. Відкритий бюкс з наважкою ставлять в нагріту сушильну шафу на 4-6 годин і висушують при температурі 105°C.

Після висушування наважки бюкси швидко ставлять в ексикатор відкритими для охолодження. Через 20-30 хвилин бюкси закривають і зважують, знову ставлять у сушильну шафу на 2 години. Висушену наважку знову охолоджують в ексикаторі і зважують. Операцію повторюють доти, доки різниця між двома останніми зважуваннями не дорівнюватиме 0,0002-0,0003 г.

Результати записують за такою схемою:

Варианти дослідів	№ бюкса	Маса бюкса	Маса бюкса з наважкою до висушування, г	Маса наважки, г	Маса бюкса з наважкою після висушування, г	Маса абсолютно сухої речовини, г	Абсолютно суха речовина, г	Вода %
				В		б	а	

Відсотки абсолютно сухої речовини обчислюють за такою формулою: $A = \frac{b}{v} \times 100$: в, де А - відсоток абсолютно сухої речовини; б - маса наважки після висушування, г; в - маса наважки до висушування, г; 100 - коефіцієнт перерахунку у відсотки.

Розрахувавши вміст сухої речовини в наважці, обчислюють відсоток води (100-а) і роблять висновок про вміст сухої речовини і води.

РОБОТА № 9 **ВИЗНАЧЕННЯ ОСМОТИЧНОГО ТИСКУ КЛІТИННОГО СОКУ** **МЕТОДОМ ПЛАЗМОЛІЗУ (ЗА ДЕ-ФРІЗОМ)**

Матеріали та обладнання: 1) синя цибуля або листки традесканції; 2) 1М розчин NaCl, KNO₃ чи сахарози; 3) дистильована вода; 4) бюретки з мітками (2шт.); 5) скляночки (7шт.); 6) предметні та накривні скельця; 7) скальпель; 8) препарувальна голка; 9) скляна паличка; 10) мікроскоп; 11) термометр кімнатний; 12) чашка Петрі.

Основні відомості. Плазмолітичний метод визначення осмотичного тиску клітинного соку полягає в тім, що зрізи досліджуваної тканини занурюють в ряд розчинів, а потім розглядають під мікроскопом. Виходячи з того, що плазмоліз здатні викликати лише гіпертонічні розчини, знаходять той, в якому спостерігається початковий плазмоліз не менш ніж у 30% клітин досліджуваної тканини. Ізотонічний розчин повинен знаходитися між цим розчином і наступним (більш слабким), який не викликає плазмолізу. Таким чином, концентрація ізотонічного розчину дорівнює (з певною похибкою) середньому арифметичному між концентраціями вказаних сусідніх розчинів.

Встановивши концентрацію ізотонічного розчину, вираховують осмотичний тиск за рівнянням Вант-Гоффа:

$$P=R \times T \times c \times I, \text{ де:}$$

P — осмотичний тиск в МПа;

R — універсальна газова стала (R=0,00831);

C — концентрація розчину, моль/л;

I — ізотонічний коефіцієнт, який показує відношення числа часток (молекул і іонів) в розчині до вихідної кількості молекул розчиненої речовини.

Для неелектролітів, наприклад, для сахарози, I=1. Для розчинів електролітів він залежить від числа іонів, на які розпадаються молекули та кількості дисоційованих молекул.

Мета роботи — визначити осмотичний тиск клітинного соку за допомогою спостереження за ступенем плазмолізу протопласту клітин епідермісу синьої цибулі або традесканції у розчинах плазмолітика різної концентрації.

Хід роботи. Готують по 10 мл. Розчинів плазмолітика від 0,1 до 0,7 моль/л, наливаючи в скляночки 1 М розчин плазмолітика і дистильовану воду. Попередньо складають таблицю розведення:

Концентрація дослідного розчину, моль/л	На 10 мл розчину	
	1М розчину, мл	води, мл

0,1	1	9
0,2	2	8
0,3	3	7
0,4	4	6
0,5	5	5
0,6	6	4
0,7	7	3

Розчин в скляночках старанно перемішують.

Готують 14 зрізів досліджуваної тканини, наприклад епідерміс синьої цибулі, і поміщають їх у воду в чашці Петрі (вода повинна бути прокип'ячена, щоб не було міхурців повітря). Чим досягається однаковий за насиченням водою стан всіх зрізів. Потім із води беруть по 2 зрізи, просушивши їх фільтрувальним папером, занурюють в розчин, починаючи з найбільш концентрованого. При цьому необхідно слідкувати за тим, щоб зрізи не плавали на поверхні, а були занурені в розчин.

Через 20-30 хвилин зрізи розглядають під мікроскопом в краплі відповідного розчину і в тій же послідовності, в якій вони занурювались в розчини.

Результати записують в зошит для лабораторно-практичних занять.

Знаходять ізотонічну концентрацію і вираховують осмотичний тиск клітинного соку за рівнянням Вант-Гоффа.

Роблять висновки з відповідним поясненням про залежність ступеню плазмолізу клітин від концентрації зовнішнього розчину.

РОБОТА № 10 **ЗАЛЕЖНІСТЬ ІНТЕНСИВНОСТІ ТРАНСПІРАЦІЇ ЛИСТКІВ РОСЛИН ВІД** **НАВКОЛИШНІХ УМОВ**

Матеріали та обладнання: 1) листки рослин з черешками; 2) олія; 3) водопровідна вода; 4) концентрована H_2SO_4 ; 5) ексикатор із гігроскопічною речовиною; 6) стакани на 100 мл (4 шт.); 7) аналітичні і торсійні терези; 8) скляні ковпаки (3 шт.); 9) міліметровий і фільтрувальний папір; 10) бактеріологічна чашка; 11) ножиці; 12) простий олівець.

Основні відомості. Продихи займають незначну частину листової поверхні. Навіть у широко відкритому стані загальна площа їх отворів не перевищує 1—2% усієї площі листка. Однак за законом Стефана випаровування з малої поверхні відбувається пропорційно не її площі, а діаметру. Це означає, що із двох отворів, діаметр яких різниться у два рази (відповідно площа у чотири рази), через більший отвір буде випаровуватися води тільки у два рази більше, ніж через менший. Але на більшій площі уміщається чотири малих отвори. Отже, із малих отворів, рівних за площею одному великому, випаровування відбувається у два рази швидше.

На 1 мм листової поверхні міститься від 50 до 500 продихових отворів. Кількість випаруваної води через них становить 80—90% кількості води, випаруваної з 1 мм вільної водної поверхні (відносна транспірація 0,8—0,9).

Якби випаровування було пропорційним площі отворів, то відносна транспірація не перевищувала б 0,01—0,02.

Випаровування характеризується інтенсивністю — кількістю води, яка виділяється з одиниці листової поверхні за одиницю часу. Інтенсивність транспірації залежить від багатьох внутрішніх і зовнішніх факторів.

Мета роботи – кількісно оцінити вплив високої та низької вологості повітря на інтенсивність транспірації. Кількість випарованої води визначають ваговим методом.

Хід роботи. Зрізують три приблизно однакових листки (з черешками) з однієї рослини одного ярусу. Листки черешками ставлять у стакани з водою. Потім у них наливають тонкий шар олії, для того щоб вода не випаровувалася з поверхні, і зважують їх на аналітичних терезах.

Після цього один стакан накривають скляним ковпаком, куди ставлять також бактеріологічну чашку з водою, а на внутрішні стінки ковпака приліплюють змочені у воді паперові фільтри (для створення підвищеної вологості повітря). Другий стакан з листком також ставлять під ковпак, де знаходиться стакан із сірчаною кислотою, яка інтенсивно вбирає вологу з повітря. Третій стакан із звичайною вологістю повітря – контроль, його також накривають ковпаком.

Приблизно через 1 год. (а краще через 1,5-2 год.) стакани з листками знову зважують і визначають кількість води, яка випарувалася листками у різних умовах досліду (I тр, г/м² за год.), за формулою:

$$I \text{ тр} = \frac{B \times 60 \times 10000}{S \times T}, \text{ де:}$$

B – кількість води, що випарувалася, г;

S – площа листка, см²;

T – тривалість досліду, хв.

Площу листків визначають так: листок кладуть на міліметровий папір і обводять його по периметру олівцем. Потім із цього ж паперу ножицями вирізують квадрат, який би зберігав контури листка. Вирізують також паперову фігуру його. Проводять два зважування: всього паперового квадрата і паперової фігури листка. Площу листка (S) розраховують за формулою:

$$S = \frac{a \times b}{c}, \text{ де:}$$

a – маса паперової фігури листка, мг;

b – площа паперового квадрата, см;

c – маса паперового квадрата, мг.

Результати досліду записують у таблицю:

Варіант досліду	Маса склянки, г		Кількість випарованої води, г	Площа листка, см ²	Інтенсивність транспірації, г/м ² за год.

Зробити відповідні висновки.

РОБОТА № 11

ЗАЛЕЖНІСТЬ НАБУХАННЯ НАСІННЯ ВІД ТИПУ ЗАПАСНИХ РЕЧОВИН

Матеріали та обладнання: 1) сухе насіння пшениці, квасолі та соняшнику; 2) водопровідна вода; 3) марлеві серветки; 4) фільтрувальний папір; 5) аналітичні терези; 6) склянки на 100 мл (3 шт.).

Основні відомості. Протоплазма і запасні поживні речовини клітин сухого насіння являють собою сухі колоїдні речовини, міцели яких здатні із значною силою притягувати до себе воду. Ця сила може досягати 1000 атмосфери і більше, що має велике значення при проростанні. У міру насичення водою сисна сила швидко зменшується.

Граничне бубнявіння насінини залежить від характеру речовин, які вона містить, тому воно досягається у різних видів при неоднаковій кількості води. Зокрема, найбільше набубнявіння спостерігається у білкових речовин, менше – у крохмалю, ще менше – у клітковини. Відповідно найсильніше бубнявіє насіння бобових рослин (квасолі, гороху, сої, вики), його маса може зростати у два рази. Значно слабше бубнявіє крохмалисте насіння злаків – кукурудзи, пшениці, жита.

Всмоктування води насінням до початку проростання не підлягає осмотичним законам, тому при висіві його у засолені ґрунти треба бути обережним: воно може прорости і загинути, коли у клітині з'являться заповнені клітинним соком вакуолі і подальше вбирання води почне визначатися величиною осмотичного тиску.

Мета роботи – спостереження за процесом набубнявіння насіння, яке різниться між собою вмістом основних запасних речовин: білка, крохмалю і жирів.

Хід роботи. Зважити по 5 г насіння пшениці, квасолі та соняшнику, загорнути у марлеві серветки, покласти у стакани і залити водопровідною водою. Не раніше як через 3 год. серветки вийняти із стаканчиків, насіння швидко обсушити фільтрувальним папером і повторно зважити. Вирахувати збільшення маси насіння і кількість увібраної води у процентах. Результати записують у таблицю:

Насіння	Маса насіння, г		Кількість увібраної води	
	до занурення	після занурення	абсолютна, г	відносна, %
Пшениці				
Квасолі				
Соняшнику				

Зробити висновки про тип колоїдів та міру їх гідрофільності у насінні різних видів рослин.

РОБОТА № 12
ПОРІВНЯННЯ ТРАНСПІРАЦІЇ ВЕРХНЬОГО І НИЖНЬОГО БОКУ
ЛИСТКА ЗА ДОПОМОГОЮ ХЛОРОКОБАЛЬТОВОГО ПАПЕРУ (ЗА
ШТАЛЕМ)

Матеріали та обладнання: 1) мікроскоп; 2) лезо безпечної бритви; 3) скляні пластинки; 4) великі канцелярські скрепки; 5) пінцет; 6) крапельниця; 7) препарувальна голка; 8) шматочки фільтрувального паперу, обробленого 5%-ним розчином хлоркобальту; 9) дослідні декоративні рослини.

Основні відомості. Метод порівняльного визначення транспірації з нижнього і верхнього боків листка за допомогою хлоркобальтового паперу ґрунтується на зміні кольору фільтрувального папірця, просиченого 5%-ним розчином хлориду кобальту при поглинанні ним парів води під час випаровування води листовою поверхнею. За часом, який необхідний для переходу забарвлення хлор кобальтового папірця із синього (CoCl_2) в рожевий ($\text{CoCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$), роблять висновок про інтенсивність транспірації верхнього і нижнього боків листка. Метод дуже простий і зручний, його можна також застосовувати для спостереження за рухом проростків протягом дня, а також за інтенсивністю транспірації з листків різних ярусів.

Мета роботи – за ступенем порожевіння смужок хлоркобальтового паперу зробити висновки про кількість проростків та інтенсивність транспірації у верхній та нижній частині листків досліджуваних рослин.

Хід роботи. В сушильній шафі просушують клаптики хлоркобальтового паперу до появи яскраво-голубого кольору і негайно прикладають до верхнього і нижнього боків листків. Хлор кобальтовий папірець необхідно тримати пінцетом, не доторкуючись до них пальцями, від яких можуть з'явитися рожеві плями. Щоб усунути дію атмосферної вологи, обережно затискають листок разом з накладеним на нього папером між двома скляними пластинками.

Спостерігають, через скільки хвилин порожевіє папір на верхньому і нижньому боках листка. За швидкістю порожевіння визначають, з якого боку листка випаровування іде швидше.

Після закінчення досліду виготовляють мікропрепарати з нижнього і верхнього епідермісу досліджуваних листів і визначають під мікроскопом кількість подихів у них. Для цього в 3-5 полях зору мікроскопа підраховують кількість подихів і виводять середнє. Результати записують за таким зразком:

Об'єкт	Поверхня листків	Час спостереження		Час, за який порожевіли папірці, хв	Кількість проростків в полі зору мікроскопа, шт
		початок досліду	кінець досліду		
	верхня				
	нижня				

На підставі отриманих результатів роблять висновки.

КОНТРОЛЬНІ ЗАПИТАННЯ
з розділу
"ВОДНИЙ ОБМІН РОСЛИН"

1. Структура води і її фізичні властивості.
2. Вода як екологічний фактор.
3. Фізіологічна роль і форма води в рослинах.
4. Осмотичні явища клітини, їх фізіологічні значення.
5. Двигуни водного потоку в рослині.
6. Швидкість водного потоку по деревині хвойних і листяних порід і методи її визначення. Сезонні зміни вмісту води в стовбурі різних деревних рослин.
7. Поглинання води кореневою системою рослини:
 - а) будова і розташування в ґрунті кореневої системи;
 - б) доступність різних форм ґрунтової води для рослин;
 - в) кореневий тиск, його сутність і залежність від зовнішніх умов.
6. Транспірація:
 - а) біологічне значення транспірації і її залежність від зовнішніх і внутрішніх факторів;
 - б) транспіраційний коефіцієнт та інші показники транспірації;
 - в) листок як орган транспірації;
 - г) періодичність продихових рухів;
 - д) продихова і позапродихова регуляція транспірації.
7. Добова і сезонна динаміка транспірації деревних рослин. В'янення і його фізіологічне значення. Коефіцієнт в'янення.
8. Групи деревних рослин за інтенсивністю транспірації. Водообмін лісу.
9. Висхідна і низхідна течії води і розчинених речовин в рослині.
10. Критичні періоди у водопотребі рослин. Фізіологічні основи зрошення.
11. Значення води для формування врожаю с.-г. рослин.
12. Фізіологічні показники, що використовуються для визначення необхідності поливу.

РОЗДІЛ 4
МІНЕРАЛЬНЕ ЖИВЛЕННЯ РОСЛИН

РОБОТА № 13
НАПІВКІЛЬКІСНИЙ МЕТОД ВИЗНАЧЕННЯ НІТРАТІВ У РОСЛИНАХ

Матеріали та обладнання: 1) рослинні об'єкти: морква, буряк, картопля, виноград, мандарин, апельсин, яблука, капуста білокачанна, тепличні: помідори, огірки тощо; 2) контрольний розчин нітратів (1,631 г хімічно чистого сухого KNO_3 розчинити у дистильованій воді і довести до 1 л); 3) 0,5% розчин дифеніламіну в концентрованій сірчаній кислоті; 4) ручний прес для видавлювання соку з дослідних об'єктів; 5) піпетки; 6) скальпелі; 7) фарфорові палетки для соку та контрольних розчинів.

Основні відомості. Мінеральні речовини рослини засвоюють з ґрунту у вигляді різних сполук. Азот у процесі живлення рослини використовують у різних формах (нітратна та амонійна форми, а також органічний азот).

Нітратна форма азоту є найоптимальнішою для живлення рослинного організму. Нітрати (солі азотної кислоти) рослини поглинають кореневою системою, відновлюючи їх до аміаку. Під дією різних чинників нітрат може проходити паренхіму кореня рослини в незмінному вигляді і по ксилемі з висхідним током потрапляти до листків, де відбувається фотохімічне відновлення нітрату до аміаку.

При надлишку азотних добрив, недостатньому освітленні нітрати накопичуються в рослинах, плодах, овочах. Допустимий вміст нітратів складає 30-150 мг на 1 кг сирової маси залежно від культури.

Мета роботи: визначити вміст нітратів в різних рослинах.

Хід роботи. Приготувати контрольні стандартні розчини з концентрацією NO_3 на 1 л дистилляту: 10 мг, 125, 250, 500, 1000. Стандартні розчини NO_3 помістити у фарфорові палетки від нижчої до вищої концентрації. В інші комірки помістити по 2 краплини соку досліджуваних об'єктів (або гомогенної маси, отриманої з рослин).

До стандартних розчинів і соку дослідних об'єктів додати по 1 краплині реактиву дифеніламіну. Реактив взаємодіє з азотом і синіє через 1-2 хв. Надалі забарвлення буде змінюватися, тому провести порівняння забарвлення з стандартними контрольними розчинами різних концентрацій потрібно швидко.

№	Об'єкт	Концентрація стандартного розчину, мг NO_3 на 1 л					Забарвлення
		10	125	250	500	1000	

РОБОТА № 14

ВИЯВЛЕННЯ НІТРАТІВ В РІЗНИХ ОРГАНАХ РОСЛИН

Матеріали та обладнання: 1) свіжі рослинні об'єкти з коренями; 2) 1%-ний розчин дифеніламіну в концентрованій сірчаній кислоті; 3) біла фарфорова чашка; 4) скляна паличка; 5) фільтрувальний папір.

Основні відомості. Азот, що поглинається коренями із ґрунту в нітратній формі відновлюється рослиною до аміаку, який потім зв'язується кетокислотами (піровиноградною, щавелевооцтовою, α - кетоглутаровою) з утворенням в процесах прямого амінування відповідної амінокислоти (аланін, глутамінову і т. д.).

При достатньо високому рівні вмісту вуглеводів і активності відповідних ферментів (нітратредуктаза та інші) вище згадані фізіолого-біохімічні процеси інтенсивно проходять в коренях. Проте, частина нітратів може в незмінному стані по висхідній течії досягти листків, де також відбувається їх відновлення.

Для виявлення нітратів використовують реакцію з дифеніламіном, який в присутності іона NO_3^- утворює синього кольору аніліновий барвник. Виходячи з інтенсивності посиніння можна орієнтовно судити про кількість нітратів у досліджуваних об'єктах.

Мета роботи – за інтенсивністю та тривалістю синього забарвлення рослинних зразків після дії дифеніламіну зробити висновок про кількість нітратів у різних органах рослин.

Хід роботи. В білу фарфорову чашку вміщують шматочки черешка, листової пластинки, коренів, плодів та інших частин рослини, розминають чистою скляною паличкою і наносять піпеткою розчин дифеніламіну (з ним слід поводитись дуже обережно) і дифеніламін можна наносити на свіжі зрізи рослинних об'єктів. Досліджують декілька рослинних об'єктів. Ступінь забарвлення оцінюють за п'ятибальною шкалою.

Шкала вмісту нітратів у рослинних об'єктах:

Характер забарвлення	Бали	Вміст нітратів % на сиру речовину
Зріз і розчин швидко забарвлюються в темно-синій колір. Забарвлення зберігається певний час.	5	0,0221 + 0,0005
Зріз і розчин забарвлюються в синій колір. Забарвлення спостерігається не відразу.	4	0,0174 + 0,0007
Зріз і розчин забарвлюються в світло-синій колір. Забарвлення зникає через 2-3 хв.	3	0,0151 + 0,0006
Забарвлюються лише провідні пучки у світло-голубий колір і забарвлення швидко зникає.	2	0,0067 + 0,0004
Слабко помітне голубе забарвлення, що швидко зникає.	1	0,0028 + 0,0006

Результати заносять у таблицю:

Об'єкт	Кількість нітратів		
	в черешках	в листовій пластинці	в коренях

У висновках вказують, в яких органах рослин відбувається відновлення нітратів.

РОБОТА № 15 **ДІАГНОСТИКА ПОТРЕБИ РОСЛИН В ОСНОВНИХ ЕЛЕМЕНТАХ** **МІНЕРАЛЬНОГО ЖИВЛЕННЯ (ЗА М. І. ВИГОРОВИМ)**

Матеріали та обладнання. 1) декоративні, деревні рослини чи окремі органи; 2) 10%-і розчини HCl і NH_3 ; 3) розчин $\text{Na}_2\text{P}_2\text{O}_7\text{Cu}(\text{NO}_2)_6$ (16); 4) 1%-й розчин H_2SO_4 ; 5) $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$ у 1%-й HNO_3 ; 6) $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$; 7) $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$; 8) дифеніламіну в концентрованій H_2SO_4 ; 9) 5%-й розчин $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$ (17); 10) $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ (у кристалах); 11) MgSO_4 (у кристалах); 12) насичений розчин NH_4Cl ; 13) 2 н. розчин NH_4OH ; 14) розчин бензидину (18); 15) насичений водний розчин CH_3COONa ; 16) 2 н. розчин HCl ; 17) розчин дипікриламіна магнію (19); 18) етиловий спирт; 19) дистильована вода;

20) мікроскоп; 21) предметні скельця (6 шт.); 22) пробірки (2 шт.); 23) фарфорова ступка; 24) тигель; 25) спиртівка; 26) паперові фільтри (2 шт.); 27) лійки (2 шт.); 28) скляні палички із загостреним кінцем (2 шт.); 29) смужки фільтрувального паперу.

Основні відомості. Для раціонального і ефективного застосування добрив необхідні прості, доступні і швидкі методи діагностики живлення. Слід відзначити, що при діагностиці живлення рослин за зовнішніми ознаками можна встановити лише дуже сильні зміни структури і метаболізму рослин, пов'язані з глибоким голодуванням. Це не минає безслідно для врожаю навіть при наступному внесенні необхідного добрива, оскільки при хронічній нестачі якогось елемента відбуваються незворотні зміни у тканинах рослин. Зокрема, при нестачі азоту, фосфору, калію, магнію, насамперед потерпають більш старі, нижні листки; при нестачі кальцію, заліза, бору, сірки, марганцю раніше і різкіше пошкоджуються молоді листки і верхівка рослин.

Першим виявом нестачі будь-якого елемента для росту рослини є зменшення його кількості у тканині чи у віджатому соку; при цьому функціональна діяльність рослини певний час не порушується. Існує ряд методів, які дають змогу встановити нестачу тієї чи іншої речовини задовго до того моменту, коли виправити стан рослин уже важко.

Зола – це залишок, який отримують після спалювання рослини та згорання органічних речовин. При спалюванні азот, вуглець, водень та частково кисень видаляються, а в золі залишаються окисли ряду елементів – натрію, калію, кальцію, заліза та ін. У різних органах рослини міститься різна кількість золи.

Грунтово-кліматичні, агротехнічні умови вирощування рослин, а також вид, сорт, особливості досліджуваних тканин впливають на вміст та склад зольних елементів. Наприклад, в листках міститься золи більше, ніж в коренях, стовбурі, корі.

Окремі види рослин здатні нагромаджувати деякі елементи в підвищеній кількості. Так, вміст бору в листках бобових культур та капусти значно вища, ніж у злакових, а вміст кальцію в листках бобових сягає цілих відсотків на суху масу, в той час у злакових культур його не більше 0,5%. Зольні елементи відіграють важливу роль в обміні речовин, вони також входять до складу біологічно-активних сполук.

Для виявлення макро- та мікроелементів у золі користуються якісними реакціями, в результаті яких утворюються кристали або розчин набуває забарвлення при наявності певного елемента.

Мета роботи – виявити потребу рослин в азоті, фосфорі, калію, кальцію, магнію, сірці і залізі за допомогою специфічних хімічних реакцій.

Хід роботи. Мікрокристалоскопічний метод. Реакції, як правило, виконують на предметному склі. На присутність досліджуваного елемента чи іону вказує специфічна форма утворених кристалів, які розглядають під мікроскопом. При використанні цього методу потрібні добре очищені витяжки, краще із золи рослин. Для цього старі (при визначенні потреби у P, K, Mg) чи молоді (при діагностиці Ca, Fe, S, Mn) листки подрібнюють, розтирають у

ступці, переносять у тигель, доливають 1-2 мл спирту і підпалюють. Операцію повторюють ще раз, а потім тигель накривають кришкою і нагрівають на спиртівці. Для визначення калію із золи готують водну витяжку, для виявлення Ca, Mg, P, S, Fe золу заливають чотирикратним об'ємом 10%-ї HCl. Після настоювання обидва розчини фільтрують.

Реактивом на калій є розчин комплексної солі свинцево-мідного азотнокислого натрію – $K_2PbCu(NO_2)_6$. Краплю водної витяжки наносять на предметне скло і висушують. На висушений залишок наносять краплю реактиву. Через 2-3 хвилини препарат розглядають під мікроскопом. При наявності калію у полі зору можна бачити темно-коричневі та чорні кубічної форми кристали свинцево-мідного азотнокислого калію $K_2PbCu(NO_2)_6$. Реакція дозволяє відкрити $0,15\gamma K^+$.

Для виявлення кальцію на краплю солянокислої витяжки діють 1%-им розчином H_2SO_4 і злегка підігрівають на спиртівці до появи облямівки по краях краплі. У результаті реакції випадають голчасті кристали гіпсу – $CaSO_4 \cdot 2H_2O$. Реакція дозволяє відкрити $0,4 \gamma Ca^{++}$.

Для виявлення магнію до краплі солянокислої витяжки на предметному склі додають трохи NH_4Cl і обробляють аміаком. Для цього предметне скло на кілька хвилин поміщають на шийку склянки з розчином NH_4OH (краплею донизу), потім у краплю уводять кристалик $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ і розглядають утворені кристалики $MgNH_4PO_4$ під мікроскопом. Реакція дає змогу виявляти мінімум $0,012 \gamma Mg^{++}$.

Для виявлення фосфору краплю 1%-го розчину молібденовокислого амонію з'єднують з краплею солянокислого розчину золи. Після підігрівання випадає зеленувато-жовтий осад фосфорномолібденовокислого амонію – $(NH_4)_3PO_4 \cdot 12MoO_3 \cdot 6H_2O$. Фосфор можна також виявити попередньою реакцією (на магній), але на останньому етапі замість $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ у краплю уводять кристалик $MgSO_4$. Утворюються такі самі кристали фосфорноаміачномагнезіальної солі — $MgNH_4PO_4 \cdot 6H_2O$. Реакція дозволяє встановити $0,01 \gamma PO_4$.

Вміст сірки визначають за допомогою розчину стронцію нітрату. Після нагрівання утворюються дрібні заокруглені кристали $SrSO_4$. Реакція дає змогу встановити $0,8 \gamma$ сірки.

Найхарактерніші кристали, утворені з участю K, Ca, Mg і P наведено на рисунку 1.

Крапельний метод ґрунтується на реакціях, які супроводжуються зміною кольору розчинів чи утворенням забарвлених осадів. Найчастіше їх виконують на смужках фільтрувального паперу, наносячи у певній послідовності по краплі досліджуваного розчину і відповідних реактивів. Крапельні реакції можна проводити у пробірці, на годинниковому склі чи на зрізі рослин. Так, на годинниковому склі у краплі солянокислої витяжки золи легко виявити залізо (якщо воно є), додавши краплю $K_4[Fe(CN)_6]$ — жовтої кров'яної солі (гексаціано-ферату). Утворений осад "берлінської лазурі" $Fe_4[Fe(CN)_6]_3$ забарвлює розчин у темно-синій колір.

Для визначення нітратів на свіжий зріз дослідного органа чи на краплю вичавленого соку на фільтрувальному папері наносять краплю розчину сірчаноокислого дифеніламіну. Залежно від кількості нітратів колір змінюється від стійкого темно-синього (надлишок нітратів) через синій, світло-синій і світло-голубий до легкого порожівіння і почорніння при відсутності нітратів. Інтенсивність забарвлення оцінюють за шестибальною шкалою.

При визначенні фосфатів на пляму соку, вичавленого на смужку фільтрувального паперу чи на зріз, послідовно наносять розчини молібденовоокислого амонію, бензидину і оцтовоокислого натрію. Забарвлення змінюється від темно-синього (достатня кількість фосфатів) через синє, світло-синє, сіро-голубе до слабо сіро-голубого чи повної його відсутності. Інтенсивність забарвлення установлюють за шестибальною шкалою.

Щоб виявити калій, на пляму вичавленого на фільтрувальний папір соку чи на зріз спочатку наносять розчин дипікриламіна магнію, а потім – 2 н. розчин соляної кислоти. Забарвлення змінюється від червоно-суриковою (достатня кількість калію) через червоно-оранжеве, жовтогаряче і солом'яно-жовте до лимонно-жовтого (калію немає). Результати записують у балах від 0 до 6.

Потребу рослин в азоті, фосфорі і калії встановлюють, виходячи з інтенсивності забарвлення зрізу чи фільтрувального паперу під дією реактивів: 5 балів – рослина елементу не потребує, 4 – слабо потребує, 3 – середня потреба, 2 – потребує, 1 – дуже потребує, 0 – дуже сильно потребує.



Рис 1. Кристали, утворені з участю К, Са, Mg і Р

1. Кристали хлориду калію
2. Кристали свинцево-мідного нітрату калію
3. Кристали сульфату кальцію (гіпсу)
4. Кристали фосфороаміачномагнізальної солі
5. Кристали фосфорномолібдату амонію.

РОБОТА № 16 **ХІМІЧНИЙ АНАЛІЗ СОКУ РОСЛИН (ЗА К. П. МАГНІЦЬКИМ)**

Матеріали та обладнання: 1) живі декоративні рослини; 2) польова лабораторія Магніцького; 3) дистильована вода; 4) марлева серветка.

Основні відомості. Аналіз соку дає можливість контролювати умови живлення рослин в польових умовах і орієнтовно визначити необхідність підживлення їх відповідними добривами.

Користуючись польовою лабораторією Магніцького, можна швидко і досить точно визначити вміст у клітинному соку азоту, фосфору, калію, магнію.

До крапель соку, віджатих із черешків листків чи стебел, додають відповідні реактиви. Забарвлення одержаних розчинів чи осадів порівнюють з кольоровою шкалою, що додається до лабораторії Магніцького, і виражають вміст відповідних елементів у мг/л соку чи балах. Прописи на виготовлення реактивів на зазначені вище хімічні елементи є в «Інструкції до польової лабораторії Магніцького».

Мета роботи – за допомогою якісних кольорових реакцій визначити вміст у клітинному соку азоту, фосфору, калію, магнію.

Хід роботи: з 5–6 рослин зрізають по одному листку певного ярусу. В картоплі, томатів, тютюну, соняшнику беруть листки, що закінчили ріст: до бутонізації – 2–3 листок, під час цвітіння і пізніше – 3–4 листок, у кукурудзи після викидання волоті – 5–6 листок знизу; у злаків після виходу в трубку беруть 2–4 листок; у буряків пробу створюють із зовнішніх листків розетки. У дерев і кущів вибирають добре освітлені типові однорічні пагони і з нижньої частини відбирають по 1–2 листка. Для аналізу беруть черешки, а в сидячих листків вирізають із нижньої третини середню жилку. Можна також використовувати нижні частини молодих пагонів.

Витирають взяту пробу чистою серветкою чи ватою. Якщо черешки товсті, розрізують їх навпіл і використовують половину чи четвертину. Із нижньої частини кожного черешка, жилки чи стебла вирізають ножицями шматок довжиною 2–3 см. Матеріал кладуть під прес, видавлюють сік і зливають в суху крапельницю. Ретельно вимивають прес водою і витирають серветкою чи фільтрувальним папером.

Для визначення нітратного азоту насипають в заглиблення фарфорової пластинки сухий реактив на азот об'ємом як зернівка жита, приливають 3 краплі буферного розчину, а потім додають одну краплю досліджуваного соку. Ретельно розмішують сік скляною паличкою і через 1 хв. порівнюють забарвлення з кольоровою шкалою лабораторії Магніцького

Для визначення фосфору вносять у заглиблення пластинки краплю соку, додають 3 краплі води і 2 краплі реактиву на фосфор. Вміст заглиблення перемішують олов'яною паличкою, поки забарвлення не стане стійким. Порівнюють забарвлення одержаного розчину з кольоровою шкалою.

Для визначення калію в заглиблення пластинки вносять краплю соку, додають краплю реактиву на калій і одну краплю соляної кислоти, перемішують скляною паличкою і порівнюють забарвлення одержаного осаду з кольоровою шкалою.

Для визначення магнію в заглиблення пластинки вносять краплю соку, три краплі води і краплю розчину титанового жовтого, перемішують скляною паличкою і додають краплю розчину NaOH. Якщо забарвлення змінюється не чітко, аналіз повторюють, додаючи перед внесенням NaOH краплю свіжовиготовленого 1%-ного розчину крохмалю. Забарвлення порівнюють із кольоровою шкалою. Із деяких рослин виділити сік досить важко або він може мати інтенсивне забарвлення, що утруднює проведення кольорових реакцій. В

таких випадках готують водну витяжку: подрібнюють матеріал, беруть наважку 2 г, додають 0,2–0,5 г активованого вугілля, 6 мл води і ретельно розтирають у фарфоровій ступці. Розтерту масу загортають в тонку щільну тканину і віджимають пресом. Оскільки на 2 г матеріалу було взято 6 мл води, то одержана витяжки приблизно в 4 рази буде слабшою за сік. Для визначення фосфору з магнію, як зазначалось раніше, сік розводять водою у відношенні 1:3; коли для аналізу беруть витяжку, такого розведення робити не слід, витяжку зразу ж використовують для визначення.

Для визначення азоту і калію в заглиблення пластинки вносять 4 краплі витяжки і дають їм випаруватися в теплом місці (на сонці). Потім до сухого залишку додають одну краплю води і проводять аналіз згідно з інструкцією. Одержані результати записують у таблицю.

Грунтуючись на одержаних даних досліджень, роблять висновки щодо ступеня забезпеченості досліджуваних рослин відповідними елементами мінерального живлення.

Рослина	Елемент	Кількість елементів	
		мг/л соку	бал

РОБОТА № 17 **ВИЗНАЧЕННЯ ЗАГАЛЬНОЇ І РОБОЧОЇ АДСОРБЦІЙНОЇ** **ПОВЕРХНОКОРЕНЕВОЇ СИСТЕМИ РОСЛИН** **(ЗА МЕТОДОМ САБІНІНА І КОЛОСОВА)**

Матеріали та обладнання: 1) досліджувані рослини з кореневою системою; 2) розчин метиленового синього (64 мг/л); 3) ФЕК; 4) кювети.

Основні відомості. За цим методом визначають загальну, робочу та недіючу поверхні кореневої системи.

Загальна адсорбційна поверхня кореневої системи – це поверхня коренів, на якій поверхнево адсорбується метиленовий синій.

Робоча (діюча) поверхня кореневої системи – це та частина поверхні коренів, крізь яку метиленовий синій проникає всередину клітин кореня.

Недіюча поверхня кореневої системи відповідає різниці між загальною і робочою адсорбційними поверхнями кореня.

Відношення робочої поверхні до загальної характеризує **вбирну здатність** кореня. Чим вище це відношення, тим більша діюча поверхня кореня, тим швидше проникають іони всередину кореня.

Відмиті від ґрунту корені занурюють на певний час у розчин метиленового синього, концентрація якого змінюється пропорційно розміру кореневої системи. Знаючи початкову і кінцеву концентрації реактиву, можна визначити, скільки його адсорбувалося. За цією кількістю обчислюють площу адсорбційної поверхні кореневої системи рослин.

Мета роботи – за кількістю поглинутого кореневою системою барвника метиленового синього визначити загальну та робочу поверхню кореневої системи досліджуваних рослин.

Хід роботи. Спочатку визначають об'єм коренів. Потім у три склянки наливають розчин метиленового синього ($T=0,074$ мг/мл). Перед виготовленням розчину барвник сушать при $95-100$ °С. У кожній склянці об'єм розчину має бути в 10 разів більшим від об'єму коренів. Струсивши з коренів воду, їх занурюють у першу склянку з розчином метиленового синього. Через 1,5 хв їх виймають і, не чекаючи, доки з них стече розчин, відразу ж переносять у другу склянку з фарбою. Через 1,5 хв корені виймають з другої склянки і швидко переносять у третю, де залишають також на 1,5 хв, після чого визначають концентрації розчинів у трьох склянках.

Будують калібрувальний графік. Якщо визначення проводять на звичайному концентраційному колориметрі, за стандарт беруть вихідний розчин метиленового синього, розбавлений 1:10. Досліджувані розчини також розбавляють у 10 разів або менше, якщо поглинання фарби було дуже великим (нерозбавлені розчини неможливо колориметрувати, оскільки їх забарвлення занадто інтенсивне).

Знаючи об'єм розчину, вихідну та кінцеву концентрації фарби в склянці, визначають масу метиленового синього, поглинутого корінням із кожної склянки.

Емпірично було встановлено, що при поглинанні фарби з першої та другої склянок за 3 хв відбувається адсорбційне насичення кореневої поверхні. За останні 1,5 хв з третьої склянки фарбу поглинає тільки робоча адсорбційна поверхня.

Помноживши $1,1$ м² на масу фарби, поглинутої з першої і другої склянок разом, дістанемо загальну адсорбційну поверхню кореня.

Робочу адсорбційну поверхню дістають, помноживши $1,1$ м² на масу фарби, поглинутої з третьої склянки. Різниця між загальною і робочою поверхнями і є недіючою поверхнею кореневої системи.

Адсорбційну поверхню (загальну, робочу і недіючу) 1 см³ об'єму живого кореня називають **питомою адсорбційною поверхнею**. Її визначають так. Розчини метиленового синього, розбавлені в декілька разів, колориметрують. Помноживши визначену концентрацію фарби у міліграмах на мілілітр на коефіцієнт розбавлення, дістають концентрацію розчинів у кожній склянці після поглинання фарби коренями. Позначимо: V – об'єм кореневої системи; 10 – об'єм розчину в кожній склянці; c_0 – початкова концентрація фарби; c_1, c_2, c_3 – кінцеві концентрації метиленового синього відповідно в першій, другій і третій склянках, мг/мл.

Кількість фарби, поглинутої з першої склянки, дорівнює $(c_0 - c_1) \cdot 10$, з другої – $(c_0 - c_2) \cdot 10$. Разом з двох склянок поглинуто:

$$(c_0 - c_1) \cdot 10 + (c_0 - c_2) \cdot 10 = 10 \cdot 2c_0 - (c_1 + c_2)$$

З перших двох склянок 1 см³ кореневої системи поглинуто:

$$2c_0 - (c_1 + c_2) \cdot 10 = 2c_0 - (c_1 + c_2) \cdot 10$$

З третьої склянки поглинуто $(c_0 - c_3) \cdot 10$ фарби, а 1 см^3 кореневої системи поглинуто:

$$(c_0 - c_3) \cdot 10 = (c_0 - c_3) \cdot 10$$

Величина робочої питомої адсорбційної поверхні дорівнює:

$$1,1(c_0 - c_3) \cdot 10 = 11(c_0 - c_3) \text{ м}^2.$$

Примітка. Загальна питома адсорбційна поверхня кореневої системи для багатьох рослин коливається в межах $0,3\text{--}0,8 \text{ м}^2$. Відношення робочої поверхні до загальної змінюється залежно від віку, умов росту і живлення рослин. Воно коливається в межах $0,2\text{--}0,5$.

Можна визначити також величину адсорбційної поверхні для аніонів. З цією метою використовують кислу фарбу, в якій забарвлений аніон (індигокармін; кисла, рожева)

Адсорбційна поверхня коренів для аніонів у декілька разів менша, ніж для катіонів.

КОНТРОЛЬНІ ЗАПИТАННЯ з розділу «МІНЕРАЛЬНЕ ЖИВЛЕННЯ РОСЛИН»

1. Елементи, які рослина поглинає із ґрунту.
2. Поняття про макро- і мікроелементи.
3. Фізіологічна роль макроелементів.
4. Фізіологічна роль мікроелементів.
5. Коренева система як орган поглинання мінеральних елементів.
6. Корінь як місце синтезу органічних сполук.
7. Механізм надходження елементів мінерального живлення в корені рослин.
8. Транспорт елементів мінерального живлення по рослинному організму.
9. Позакореневе живлення рослин.
10. Роль мікоризи і ризосферної мікрофлори в мінеральному живленні рослин сильномікотрофні, слабкомікотрофні та немікотрофні деревні породи.
11. Антагонізм іонів і фізіологічно врівноважені розчини.
12. Синергізм і адитивність.
13. Живлення рослин азотом.
14. Відновлення нітратів в рослинах.
15. Включення аміаку в метаболізм рослин.
16. Особливості азотного живлення бобових рослин.
17. Кореневі виділення рослин. Ґрунтопокращуюча здатність окремих видів деревних порід. Алелопатія.
18. Потреба рослин у елементах мінерального живлення в онтогенезі.
19. Діагностика мінерального живлення рослин.
20. Кругообіг мінеральних елементів в лісових біогеоценозах.
21. Фізіологічні основи застосування добрив у лісовому господарстві.
22. Вирощування рослин на різних субстратах. Гідропоніка.

РОЗДІЛ 5 ФОТОСИНТЕЗ

РОБОТА № 18 ПІГМЕНТИ ЗЕЛЕНОГО ЛИСТКА

Матеріали та обладнання: 1) свіжі або сухі листки деревних чи декоративних рослин, хвоя; 2) етиловий спирт; 3) бензин; 4) КОН в гранулах; 5) 10 %- на НСІ в крапельниці; 6) СаСО₃; 7) оцтовокислі цинк чи мідь; 8) кварцовий пісок чи товчене скло; 9) ступка з товчачиком (сухі); 10) лійка; 11) скляна паличка; 12) штативи з пробірками (5шт.); 13) піпетка; 14) ножиці; 15) спиртівка; 16) утримувач для пробірок; 17) вазелін; 18) паперовий фільтр; 19) сірники; 20) кольорові олівці.

Основні відомості. Фотосинтез – це процес утворення органічних речовин в зеленій рослині із диоксиду вуглецю та води за участю світлової енергії:



Фотосинтез здійснюється в хлоропластах, що оточені двома білково-ліпідними мембранами. Хлоропласт містить систему ламелярних подвійних мембран – тилакоїдів, утворених внутрішньою мембраною. В тилакоїдах здійснюється світлова фаза фотосинтезу, тобто трансформація енергії квантів світла у хімічну енергію син тезових АТФ та НАДФ. Н₂, а біохімічні реакції, відновлення СО₂ і синтез вуглеводів, відбувається у міжтилакоїдному просторі.

В мембранах тилакоїдів містяться такі пігменти: хлорофіл «а» С₅₅Н₇₂О₅Н₄Мg – зеленого кольору з синюватим відтінком; «б» С₅₅Н₇₀О₆Н₄Мg – зеленого кольору з жовтуватим відтінком; каротин С₄₀Н₅₆ – жовто-оранжевого кольору. Всі зазначені пігменти нерозчинні у воді, проте добре розчиняються в органічних розчинниках (спирті, ацетоні, бензині та ін.).

За хімічною природою хлорофіли являють собою складні ефіри дикарбонової кислоти хлорофіліну та двох спиртів – метанолу СН₃ОН і фітону С₂₀Н₃₉ОН; каротиноїди є тетраатерпеноїдами (8 залишків ізопрену С₅Н₈).

Мета роботи – одержати спиртову витяжку із зелених листків, провести розділення пігментів за Клаусом, здійснити омилення хлорофілів лугом, одержати феофітин та відновити металоорганічні зв'язки у молекулі хлорофілу.

Хід роботи. Свіжі чи сухі листки подрібнюють ножицями, відкидають крупні жилки і черешки, вміщують у ступку, додаючи СаСО₃ для нейтралізації клітинного соку (коли беремо свіжі листки) і трохи чистого кварцового піску чи товченого скла. Добре розтирають, додаючи невеликими порціями етиловий спирт, змастивши носик ступки ззовні вазеліном, зливають одержаний темно – зелений розчин по паличці у лійку з фільтром.

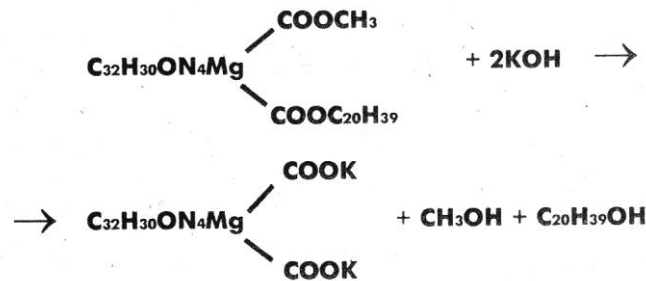
Наливають одержану витяжку по 2-3 мл в чотири пробірки і проводять такі досліди:

а) **розділення пігментів за Краусом.** Додають до спиртової витяжки пігментів дещо більший об'єм бензину і 2-3 краплі води (щоб спирт не зміщувався з бензином). Пробірку закривають пальцем, декілька разів

інтенсивно струшують і дають відстоятись. Помутніння нижнього шару від надлишку води можна усунути, приливаючи трохи спирту. Відмічають забарвлення нижнього (спиртового) шару і верхнього (бензинового), замальовують.

Роблять висновки про різну розчинність пігментів у спирті і бензині; при цьому слід урахувати, що ксантофіл, як двоосновний спирт, майже не розчинний у бензині. Щодо каротину, то правильний висновок можна зробити після співставлення результатів цього досліду з наступним.

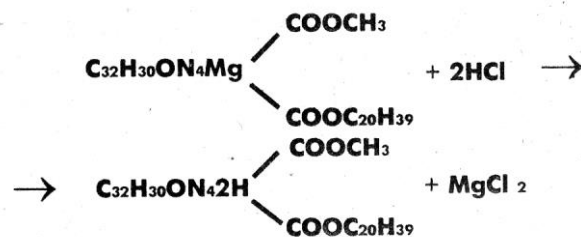
б) **омилення хлорофілу лугом.** До 2-3 мл спиртової витяжки пігментів додають 1-2 гранули луку і струшують, потім приливають такий же об'єм бензину, інтенсивно струшують і дають відстоятись. Відмічають забарвлення спиртового і бензинового шарів, замальовують. У висновках зазначають реакцію омилення хлорофілу, в результаті якої відбувається відщеплення спиртів – метанолу і фітолу, а двоосновна кислота хлорофілін дає сіль:



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

Зазначають, які речовини розчинні в спирті і бензині, маючи на увазі, що жовті пігменти із лугом не реагують.

в) **одержання феофітину і відновлення металоорганічних зв'язків.** Беруть дві пробірки із спиртовою витяжкою пігментів і доливають в них по 2-3 краплі 10%-ної HCl. При цьому утворюється буровато-оливкова речовина – феофітин – продукт заміщення магнію в молекулі хлорофілу двома атомами водню:



В одну з пробірок з феофітином вносять невелику кількість оцтовокислої цинку чи оцтовокислої міді і доводять розчин до кипіння на спиртівці. Відмічають зміну забарвлення завдяки відновленню металоорганічних зв'язків. Записують рівняння реакції.

РОБОТА № 19

ОПТИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ПІГМЕНТІВ

Матеріали та обладнання: 1) спиртова витяжки пігментів листків деревних та декоративних рослин, хвої; 2) розчин каротину (бензиновий шар, одержаний після омилення хлорофілу) і ксантофілу; 3) спектроскоп.

Основні відомості. В процесі фотосинтезу світлова енергія перед трансформацією в хімічну повинна бути поглинена пігментами. Пластидні пігменти поглинають світло в межах видимої частини спектру (380-720 нм), завдяки чому ця ділянка випромінювання називається фотосинтетично-активною радіацією (ФАР). Пігменти поглинають видиме світло не повністю, а вибірково, тобто кожен пігмент має свій характерний спектр поглинання. Зокрема, найважливіша особливість спектрів поглинання хлорофілів «а» і «б» - наявність у них двох чітко виражених максимумів в червоній ділянці – відповідно 660 і 640 нм і в синьо-фіолетовій – 430 і 450 нм. Мінімум поглинання знаходиться в зоні зелених променів; цим і пояснюється зелене забарвлення листків. В живому листку хлорофілів більш широкий і вирівнюваний спектр поглинання.

Каротин і ксантофіли поглинають світло лише в ділянці синьо – фіолетових променів.

Мета роботи – дослідити спектри поглинання фотосинтетичних пігментів за допомогою спектроскопу.

Хід роботи. Для того, щоб розглянути спектр поглинання хлорофілу, спочатку при допомозі спектроскопа розглядають спектр сонячного світла (чи від електричної лампочки). Потім перед щілиною спектроскопа розміщують пробірку з витяжкою пігментів і спостерігають темні смуги поглинання в червоних і синьо – фіолетових променях спектра. Спектр поглинання хлорофілу замальовують.

Ширина смуг поглинання залежить від концентрації хлорофілу. Щоб упевнитися у цьому, відливають у чисту пробірку невелику кількість витяжки і розбавляють її спиртом у співвідношенні 1:1 та 1:5. Розглядають спектр поглинання.

Для одержання спектра поглинання каротиноїдів беруть їх розчини і розміщують перед щілиною спектроскопа. Розглядають спектри поглинання і порівнюють їх зі спектром поглинання хлорофілу.

Спектри поглинання пігментів замальовують у вигляді таблиці і роблять відповідні висновки.

Розчини	Ф	С	Г	З	Ж	О	Ч
Хлорофілу:							
Нерозбавлений розчин							
Розбавлений розчин 1:1							
Розбавлений розчин 1:5							
Каротину							
Ксантофілу							

РОБОТА № 20

ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ ХЛОРОФІЛУ В ЛИСТКАХ ЗА ДОПОМОГОЮ ФОТОЕЛЕКТРОКОЛОРИМЕТРА

Матеріали та обладнання: 1) сухі чи свіжі листки деревних рослин рослин, хвоя; 2) ацетон; 3) спирт етиловий; 4) лійка з фільтром; 5) мірна колба чи циліндр; 6) зневоднена сірчано кисла мідь; 7) стандартний розчин хлорофілу; 8) бюкс металевий; 9) ФЕК – 56 ПМ; 10) сушильна шафа; 11) ступка; 12) вага технохімічна.

Основні відомості. Для визначення концентрації хлорофілу (як і інших забарвлених розчинів) застосовують фотоелектроколориметр, принцип дії якого ґрунтується на зрівнюванні інтенсивності двох світлових пучків за допомогою стандартного розчину відомої концентрації. При проходженні світлового пучка крізь досліджуваній розчин його світлова енергія понижується в результаті поглинання променів спектра розчиненою речовиною. Наприклад, хлорофіл найінтенсивніше поглинає червоні промені світла, тому світлова енергія цих променів що пройшла крізь розчин хлорофілу значною мірою понижується.

Мета роботи – визначити вміст хлорофілу у листках досліджуваних рослин за інтенсивністю забарвлення спиртової їх витяжки.

Хід роботи. У фарфорову ступку беруть наважку листків 250 мг, приливають 3-4 мг етилового спирту і розтирають до одержання гомогенної маси. Потім розтерту масу переносять на фільтр, після цього ступку двічі промивають і знову зелений розчин переносять на фільтр. Фільтрування здійснюється через фільтр змочений спиртом, в мірну колбу на 25 мл. Витяжку ретельно перемішують і приступають до колориметрування.

Якщо для досліджень беруть свіжі листки, то необхідно визначити їх вологість. З цією метою беруть наважку 1г, вносять її в металічний бюкс, ставлять у сушильну шафу і висушують при температурі 105°C до постійної маси. Вологість листка визначають за формулою:

$$X = \frac{(a - в)}{a} \times 100\%, \text{ де}$$

a – маса сирої наважки;

в – маса сухої наважки.

Порядок колориметрування:

1. Включають прилад в електромережу за 15-20 хв. до вимірювання .
2. Встановлюють «електричний нуль». Для цього з допомогою рукоятки перекривають світловий потік шторкою і рукояткою установки електричного нуля переміщують стрілку мікроамперметра на «0», відкривають шторку.
3. Рукояткою переключення світлофільтрів встановлюють відповідний світлофільтр.
4. Встановлюють рукоятку чутливості так, щоб при повороті барабана на 1% по шкалі світло пропускання стрілка мікроамперметра відхилилась на 1-3 поділки.

5. В лівий пучок світла вміщують кюветку з розчинником (водою), в правий – із забарвленим розчином.
6. Правий барабан встановлюють на поділку 100 по шкалі світлопропускання (числа чорного кольору).
7. Прокручуванням лівого барабана досягають установа стрілки мікроамперметра на «0».
8. Поворотом рукоятки в правому світловому потоці кюветку з розчином замінюють з кюветкою з розчинником (водою). Прокручуванням правого барабана досягають установа стрілки мікроамперметра на «0».
9. Записують показник оптичної густини на шкалі на правому барабані (червоні числа). По закінченні роботи прилад відключають.
10. По відшуканій величині оптичної густини розраховують концентрацію хлорофілу за формулою:

$$C = \frac{D_1 \times 0,000085 \times V \times 100}{D_2 \times M \times (1 - 0,01 \times A)}, \text{ де:}$$

C- вміст хлорофілу, % на суху речовину листка;

D₁- оптична густина стандартного розчину;

D₂- оптична густина дослідного розчину;

0,000085- концентрація хлорофілу, г/мл;

M- наважка листків;

V- об'єм витяжки, мл;

a- вміст води в листках, %.

Робота завершується відповідними висновками.

РОБОТА № 21 **ФОТОСЕНСИБІЛІЗУЮЧА ДІЯ ХЛОРОФІЛУ НА РЕАКЦІЮ** **ПЕРЕНЕСЕННЯ ВОДНЮ (ЗА ГУРЕВИЧЕМ)**

Матеріали та обладнання: 1) штатив; 2) 4 пробірки; 3) чорний папір; 4) електролампа на 300 Вт; 5) піпетки; 6) скляна посудина з плоско паралельними стінками; 7) шпатель; 8) спиртова витяжка пігментів з листків чи хвої; 9) метиловий червоний; 10) спирт етиловий; 11) кислота аскорбінова кристалічна.

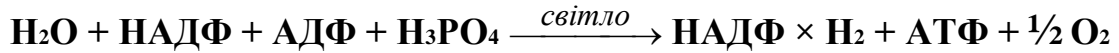
Основні відомості. Суть світлової фази фотосинтезу полягає в окисненні води до молекулярного кисню з участю світлової енергії, поглиненої хлорофілом. Електрони і протони, що при цьому вивільнюються, передаються по ланцюгу проміжних переносників до НАДФ, що відновлюється до НАДФ×Н₂.

Крім того, при перенесенні електронів частина енергії використовується на утворення АТФ, тобто на синтетичне фотофосфорилування.

Вважають, що в перенесенні електронів води до НАДФ беруть участь послідовно дві пігментні системи, які містять різні форми хлорофілу, що відрізняються максимумами поглинання в довгохвильовій частині спектра. В першу систему входить хлорофіл «а», в другу – хлорофіл «б» та деякі інші пігменти.

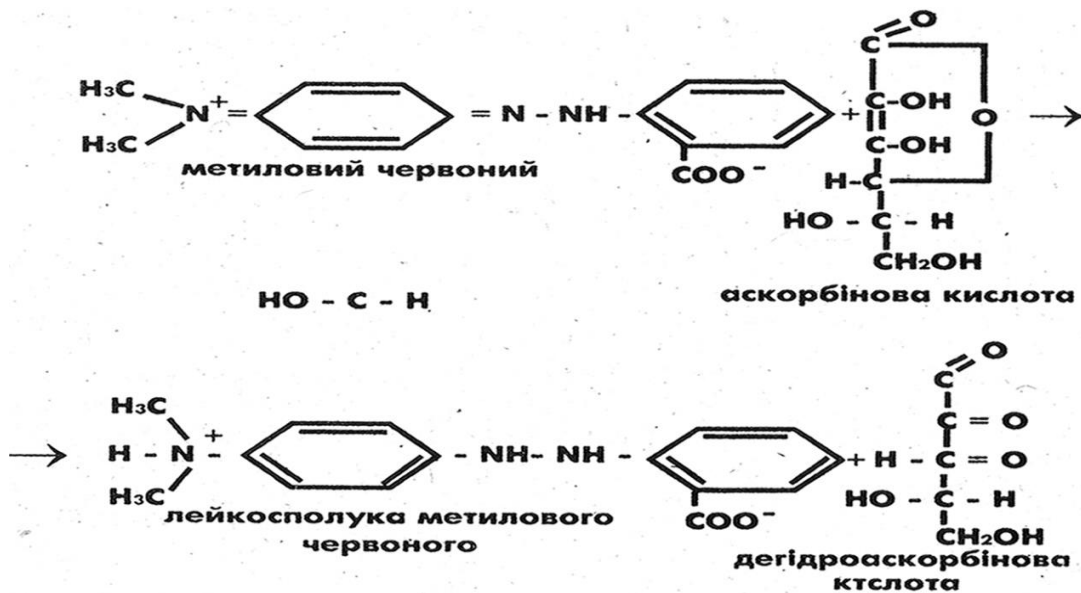
Отже, кінцевий результат фото окислення води – виділення молекулярного кисню і утворення багатих на енергію відновних потенціал сполук: АТФ і НАДФ × Н₂, необхідних для наступного відновлення СО₂.

Спрощено фотоліз води і фотофосфорилування можна уявити таким чином:



Як видно із наведеного рівняння, хлорофіл виконує функцію фотосенсибілізатора, що сприяє перенесенню електронів (водню) та НАДФ.

Фотосенсибілізуюча роль хлорофілу може бути продемонстрована в модельних дослідах з виділеним із рослин хлорофілом. За джерело водню беруть аскорбінову кислоту, а акцептор – метиловий червоний, який при приєднанні водню відновлюється до безбарвної лейкосполуки. Аскорбінова кислота окислюється в дегідроаскорбінову кислоту:



Цю реакцію легко спостерігати, оскільки вона пов'язана із знебарвленням метилового червоного, забарвлення хлорофілу залишається без змін.

Мета роботи – за утворенням безбарвної лейкоформи барвника зробити висновок про фотосенсибілізуючу дію хлорофілу.

Хід роботи. Беруть чотири пробірки: в перші три приливають по 5 мл спиртової витяжки хлорофілу, в четверту по – 5 мл етилового спирту. В першу, другу і четверту пробірки вносять по 50 мг кристалічної аскорбінової кислоти і декілька разів енергійно струшують розчин. У всі пробірки з хлорофілом приливають по краплях спиртовий розчин метилового червоного до тих пір, поки червоне забарвлення перейде у червоно – буре. У четвертій пробірці забарвлення розчину доводять за допомогою індикатора до рожевого. Другу пробірку закривають чохлаком із чорного паперу, а потім усі пробірки становлять у штатив і освітлюють електролампю (300Вт), що розташована за 15 см від штатива. Для поглинання теплових променів між пробірками і джерелом освітлення розміщують заповнену водою посудину з плоскопаралельними стінками.

Після 10-15 хвилинного освітлення в першій пробірці внаслідок відновлення метиловий червоний знебарвлюється і розчин знову набуває зеленого забарвлення. В дослідних пробірках забарвлення розчинів не змінюється, оскільки при відсутності світла, аскорбінової кислоти чи хлорофілу метиловий червоний не відновлюється до лейкоформи.

Роблять узагальнення і висновки за результатами досліджень.

На основі описаної роботи можна спостерігати також залежність фото сенсibiliзуючої дії хлорофілу від інтенсивності світла та його спектрального складу, а також концентрації пігменту.

РОБОТА № 22

ВИЗНАЧЕННЯ ЧИСТОЇ ПРОДУКТИВНОСТІ ФОТОСИНТЕЗУ

Матеріали та обладнання: 1) дослідні рослини; 2) технічні і аналітичні терези; 3) бюкси; 4) ножиці; 5) папір; 6) пробкові свердла; 7) термостат.

Основні відомості. Фотосинтетична діяльність рослин визначає розміри урожаїв, але між інтенсивністю фотосинтезу і нагромадженням біомаси рідко спостерігається пряма залежність. Фотосинтез у природних умовах – процес надзвичайно мінливий. Він пов'язаний з багатьма зовнішніми і внутрішніми факторами, тому для прогнозування і оцінки продукційного процесу найчастіше користуються стабільнішими показниками, які оперують загальною площею листків – основного фотосинтетичного органу. Вважають, зокрема, що одним із найважливіших параметрів, з яким рівень урожаїв корелює найтісніше, є фотосинтетичний потенціал – сума щоденних показників площі листків на 1 га посіву. До продуктивних посівів належать такі, фотосинтетичні потенціали яких відповідають 2 млн на м² за добу з розрахунку на кожні 100 днів фактичної вегетації. Важливо, щоб площа посіву не тільки взагалі досягла оптимальної величини, але щоб формування її відбувалося у певному оптимальному темпі, більш-менш специфічному для різних культур.

Для дослідження фотосинтезу в природних умовах ефективний метод визначення "нетто-асиміляції", або чистої продуктивності фотосинтезу – добового приросту сухої маси рослин на одиницю площі листків. Саме за його допомогою можна одержати матеріал для пошуків шляхів підвищення продуктивності посівів, прогнозування і програмування врожаїв, визначення потенціалу рослин при їх розміщенні у різних географічних зонах.

Дані заносять у таблицю:

Дата спостереження	Об'єкт	Кількість рослин у пробі	Сира маса рослин, г			
			листки	стебла	плоди	загальна

Мета роботи – оволодіти методом визначення чистої продуктивності фотосинтезу сільськогосподарських культур.

Хід роботи. Відбирають 10 середніх рослин, зрізують і приносять у лабораторію. При цьому в пробу включають листки і гілки, що засохли та

опали. Визначають масу всіх 10 рослин, зривають усі листки і зважують їх окремо.

Для визначення площі листків користуються ваговим методом, для чого з листків відібраних рослин пробковим свердлом певного діаметра роблять по кілька висічок, їх об'єднують (повинно бути не менше 100–150 висічок) і зважують. Діаметр свердла вибирають залежно від розмірів листкової пластинки. Площу листків визначають за формулою:

$$S = \frac{a \times c}{v}, \text{ де:}$$

а – загальна маса сирих листків, г;

в – загальна маса сирих висічок, г;

с – загальна площа висічок, см².

Після цього усі рослини чи певну частину їх розрізують на смужки завдовжки 2–3 см і висушують у приміщенні до повітряно-сухого стану. Одночасно відбирають проби для визначення процентного вмісту сухої речовини у кожному органі шляхом зважування і висушування у термостаті при 105°С до постійної маси. Через 7–10 днів знову відбирають 10 рослин і усі операції повторюють.

Чисту продуктивність фотосинтезу (г/м²/добу) визначають за формулою:

$$\text{ЧПФ} = \frac{A_2 \times A}{0,5 \times (L_1 + L_2) \times T}, \text{ де:}$$

A₁ і A₂ – абсолютно суха маса рослини на початку і в кінці облікового періоду, г;

L₁ і L₂ – площа листків рослини у першій і другій строки визначення, м²;

T – кількість днів між першим і другим визначеннями.

Суша маса рослин, г				Площа листків, м ²	Чиста продуктивність фотосинтезу, г/м ² за добу
листки	стебла	плоди	загальна		

Щоб мати повне уявлення про роботу фотосинтетичного апарату рослини, визначення ЧПФ проводять кілька разів за вегетаційний період.

РОБОТА № 23 **ВИЗНАЧЕННЯ ПЛОЩІ ЛИСТКІВ РОСЛИН**

Матеріали та обладнання: 1) щойно зірвані листки дослідних рослин; 2) торсійні або аналітичні терези; 3) світлочутливий та звичайний папір; 4) лінійки; 5) коркові свердла; 6) ножиці; 7) скляні пластинки; 8) ексикатор з аміаком; 9) електричні лампи на 300 В.

Основні відомості Для визначення площі листкової поверхні розроблена значна кількість методів. Нижче наведені деякі з них.

Мета роботи – опанувати методами визначення площі листя досліджуваних рослин.

Метод відбитків. Листок рослини накладають на однорідний папір і обводять олівцем гострим олівцем. Відбиток листка можна отримати також за допомогою світлочутливого паперу. Для цього листок кладуть на світлочутливий папір, притискають до нього скляною пластинкою і виставляють на сонячне світло або освітлюють яскравою електролампю протягом 3-5 хвилин. Потім контур відбитку обводять олівцем. Іноді світлочутливий папір з відбитками листків вносять на 1-2 хвилини в ексікатор, на дно якого попередньо наливають розчин аміаку. Під впливом його парів отримують чітко виражені контури листових пластинок. Проявлені відбитки листка можна зберігати досить довго.

Отримавши тим чи іншим чином відбиток листка, визначають його площу. Якщо папір однаковий по товщині, використовують ваговий метод. В цьому випадку вирізають контур листової пластинки і зважують на торсійних або аналітичних вагах. Одночасно з такого ж паперу вирізають квадрат площею 100 см² (10x10 см) та визначають його масу. Площа листка, що досліджується, вираховують по формулі:

$$S = \frac{a \times c}{b}, \text{ де:}$$

- a – маса контуру листка, мг;
- b – маса квадрату паперу, мг;
- c – площа квадрату паперу, см²;

Площу контуру можна виміряти також за допомогою планіметра.

Описаний метод досить широко застосовується: він простий і достатньо точний, але його практично неможливо використовувати при дослідженні гофрованих та складних листків.

Метод висічок. Є найбільш доступним та продуктивним що робить його особливо цінним для польових дослідів. Відбирають середню пробу рослин, швидко зрізають листки та визначають їх масу. Потім з кожного листка вибивають корковим свердлом певного діаметру кілька висічок та зважують. Діаметр свердла вибирають в залежності від розмірів листової пластинки та її поверхневої щільності. Площу листків визначають за формулою:

$$S = \frac{a \times c}{b}, \text{ де:}$$

- a – загальна маса сирих листків, г;
- b – загальна маса сирих висічок, г;
- c – загальна площа висічок, см².

Недоліком методу є його відносно невисока точність.

Визначення площі листка за його параметрами. Метод базується порівнянні листка з якою-небудь простою геометричною фігурою, що досить добре співпадає з його конфігурацією. Листок вписують у відповідну фігуру так, щоб основні параметри їх були спільними. Так, листя злаків легко вписуються в витягнутий прямокутник. Вимірюючи ширину (a) та довжину (b) такого прямокутника, знаходять його площу (S), що дорівнює $S = a \times b$. Однак листовая пластинка не займає всю його площу і справжня площа листка $S_{л}$, визначена методом відбитків, буде меншою площі фігури (S). Тому встановлюють

поправочний коефіцієнт K , що відповідає відношенню $\frac{S \times \pi}{S}$. Звідси фактична площа листка злаків буде дорівнювати $S\pi = a \times b \times K$.

Таким же чином діють при знаходженні поправочних коефіцієнтів для листків інших рослин, моделюючи їх з відповідними геометричними фігурами. Причому коефіцієнт K отримують на основі аналізу багатьох листків і кілька разів за вегетаційний період. Це викликається тим, що конфігурація листків зазнає вікових змін. Тому необхідно систематично перевіряти придатність раніше розрахованих поправочних коефіцієнтів. Слід зауважити, що метод визначення площі листків за параметрами можна використовувати лише при роботі з рослинами, що мають відносно нескладну та стійку форму.

Позитивами методу є простота, відносно висока продуктивність та можливість визначення листової поверхні без відокремлення листків від рослини. Але одночасно йому притаманна невисока точність.

Автоматичне планометрування. На даний час для визначення площі листя все більше застосовуються різноманітні моделі фотопланіметрів: з паралельним пучком, з інтегруючою сферою, з скануючим променем. Головна перевага фотопланіметра – висока продуктивність. Але при цьому можна працювати лише з відокремленими від рослини листками і в лабораторних умовах. Крім того, фотопланіметри мають ряд істотних конструктивних недоліків, що є джерелом різноманітних помилок.

РОБОТА № 24 **ВИЗНАЧЕННЯ МАСОВОЇ ЧАСТКИ ЗЕЛЕНИХ ПІГМЕНТІВ** **(СУМИ ХЛОРОФІЛІВ «a» І «b») У ЛИСТКАХ РОСЛИН**

Матеріали та обладнання: 1) свіжі або сухі листки дослідних рослин; 2) ножиці; 3) аналітичні терези; 4) коркове свердло; 5) ФЕК; 6) кювети; 7) ступки; 8) товкачки; 9) кварцовий пісок або товчене скло; 10) ацетон або етиловий спирт; 11) вазелін; 12) скляні палички; 13) лійки; 14) колби Бунзена; 15) насос; 16) фільтри; 17) колби на 50 мл; 18) мірні колби; 19) корки.

Основні відомості. Вміст зелених пігментів в листках залежить від умов освітлення, умов мінерального живлення, віку листків та інших факторів.

Як правило, для визначення суми хлорофілів a і b використовують розчинники – спирт або ацетон. Витяжку зелених пігментів можна одержати і обчислити їх масові частки наступними способами:

1. Із свіжих листків, які дрібно нарізають ножицями і розтирають в фарфоровій ступці із розчинником і кварцовим піском. Одержану суспензію відфільтровують через фільтр в суху мірну колбочку.
2. Із сухих листків, які розтирають в ступці до дрібного порошку, додають розчинник і знову розтирають та відфільтровують, як у попередньому випадку.
3. Із свіжих листків, які кладуть в склянку із розчинником, щільно закривають корком і настоюють 12-24 години.

Мета роботи – за допомогою фотоелектроколориметра визначити масову частку хлорофілів у листках рослин.

Хід роботи. Листки подрібнюють ножицями, відкидаючи черешки, крупні жилки і відбирають пробу масою 300-500 мг. Пробу кладуть в ступку, додають кварцовий пісок або товчене скло, CaCO_3 , приливають 4-5 мл ацетону або етилового спирту і ретельно розтирають. Носик ступки змащують вазеліном і зливають витяжку по скляній паличці в лійку з скляним фільтром, яку вставляють в колбу Бунзена. Рідину відсмоктують за допомогою насоса. В ступку приливають небагато розчинника, розтирають, виливають на фільтр і знову відсмоктують. Операцію повторюють 2-3 рази. Ступку споліскують 3 рази ацетоном, зливають на фільтр, дають постояти кілька хвилин і відсмоктують. Фільтр промивають розчинником до повного вилучення пігментів (розчинник, що стікає з фільтра, й сам фільтр повинен бути безбарвним).

Витяжку переливають в колбу на 50 мл і доводять до мітки ацетоном. При цьому колбу Бунзена не менше 3-х разів споліскують розчинником і зливають в мірну колбу. Мірну колбу закривають корком, витяжку добре перемішують і зберігають до визначення пігментів в темному прохолодному місці.

Витяжку пігментів із сухих листків готують аналогічним чином.

Шляхом настоювання (екстрагування) витяжку пігментів готують так. Листки подрібнюють за допомогою ножиць і відважують на аналітичних терезах 200 мг, або ж корковим свердлом вирізають висічки, теж готують пробу. Пробу переносять в скляночку, яка повинна щільно закриватися і мати відповідні надписи із зазначенням варіанта, номера польового і лабораторного повторення. Проби заливають 20 мл 96% етилового спирту, щільно закривають і ставлять на 1-2 доби в прохолодне темне місце для екстрагування.

Одержану будь-яким із вищезазначених способів витяжку зелених пігментів колориметрують на фотоелектроколориметрі (червоний світло-фільтр).

Одночасно з визначенням вмісту хлорофілу відбирають проби листків для визначення в них масової частки води (див. методику визначення вологості та масової частки сухої речовини в рослинному матеріалі).

Масову частку хлорофілу в листках розраховують за формулою

$$C = \frac{D_2 \times 0,000085 \times V \times 100}{D_1 \times M \times (1 - 0,01 \times A)}, \text{ де:}$$

C – масова частка хлорофілу, в процентах на суху речовину;

D_1 – оптична щільність стандартного розчину Гьотрі;

D_2 – оптична щільність досліджуваного розчину;

0,000085 – концентрація хлорофілу, мг/мл;

M – маса проби рослинного матеріалу, г;

V – об'єм витяжки, мл;

A – масова частка води в рослинному матеріалі, %.

Виготовлення стандартного розчину Гьотрі.

На дистильованій воді готують три розчини:

1. 1% $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (розчин обов'язково фільтрують);

2. 2% $K_2Cr_2O_7$;
3. 7% аміак.

В мірну колбу на 100 мл вливають 28,5 мл 1% розчину сульфату міді, 50 мл 2% розчину біхромату калію і 10 мл 3% розчину аміаку, доводять до мітки дистильованою водою, перемішують і переливають в чисту суху склянку з притертою кришкою. Розчин Гьотрі за забарвленням еквівалентний розчину хлорофілу концентрацією 85 мг/л. Зберігають стандартний розчин в холодильнику.

КОНТРОЛЬНІ ЗАПИТАННЯ з розділу **«ФОТОСИНТЕЗ»**

1. Загальна характеристика фотосинтезу, його значення в енергетиці рослини, природі і сільському господарстві.
2. Листок як орган фотосинтезу.
3. Пігменти зеленого листка.
4. Фотосинтетична одиниця.
5. Світлова фаза фотосинтезу.
6. Структурна організація електронно-транспортного ланцюга хлоропласта.
7. Фотосистема I і фотосистема II.
8. Первинні процеси фотосинтезу. Фотосинтетичне фосфорилування.
9. Метаболізм вуглецю при фотосинтезі (цикл Кальвіна).
10. C_4 – шлях фотосинтезу (цикл Хетча-Слека або кооперативний фотосинтез).
11. Внутрішні системи регуляції фотосинтезу.
12. Інтенсивність фотосинтезу та її залежність від умов середовища.
13. Показники фотосинтезу.

РОЗДІЛ 6 **ДИХАННЯ**

РОБОТА 25 **ВИЗНАЧЕННЯ ДИХАЛЬНОГО КОЕФІЦІЄНТУ ПРОРОСТАЮЧОГО** **НАСІННЯ РІЗНИХ РОСЛИН**

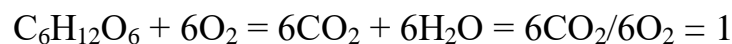
Матеріали та обладнання: 1) штативи; 2) гумові корки з вставленими в них зігнутими під прямим кутом тонкими градуйованими трубками; 3) пісковий годинник на 5 хв; 4) ножиці; 5) пінцети; 6) фільтрувальний папір; 7) проросле насіння різних деревних порід; 8) вазелін; 9) 20%-ний розчин KOH; 10) насіння дослідних рослин.

Основні відомості. Дихальний субстрат в значній мірі впливає на газообмін у процесі дихання. Щоб характеризувати співвідношення між

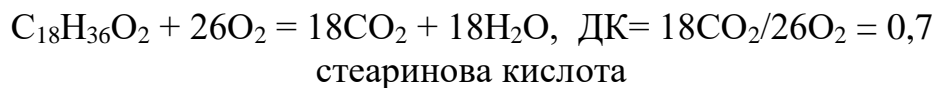
виділеною вуглекислою, і увібраним киснем, користуються показником, який називається дихальним коефіцієнтом (ДК).

$$\text{ДК} = \frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$$

Величина ДК залежить від ступеня відновлення органічної речовини, яка окислюється при диханні, від ступеню забезпеченості клітини, що дихає киснем тощо. Наприклад, коли дихальним матеріалом є вуглеводи, то ДК дорівнюватиме одиниці, тому що при окисленні гексози (глюкози або фруктози) об'єми газів, які обмінюються при диханні однакові:

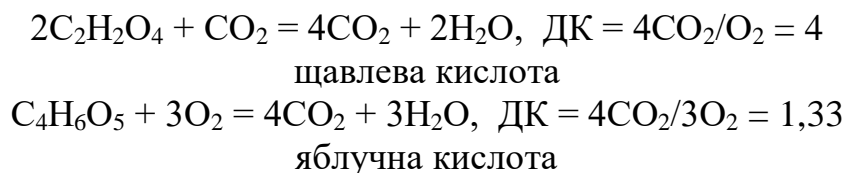


Коли в процесі дихання використовуються жири, наприклад, при диханні насіння олійних рослин, то ДК буде менше ніж одиниця, бо в молекулі жиру менше кисню, ніж у молекулі вуглеводу I для окислення жиру витрачається більше кисню:



Якщо для дихання використовуються білки, то ДК також буде меншим за одиницю.

Коли на дихання використовуються більш окислені речовини, ніж вуглеводи, білки і жири, наприклад, органічні кислоти, то величина ДК буде більшою за одиницю:



Визначення величини дихального коефіцієнта широко використовують для характеристики процесів дихання як організмів в цілому, так і їхніх органів і тканин.

Зручним об'єктом для визначення ДК є проросле насіння різних рослин, бо в ньому міститься багато органічних запасних поживних речовин: вуглеводів, жирів, білків тощо. ДК пророслого насіння різних сільськогосподарських культур визначають на простих приладах, які монтують з пробірок і скляних трубок.

Щоб орієнтовно визначити величину ДК, досліджуваний матеріал вміщують у пробірку і щільно закривають її гумовим корком з градуйованою трубкою, в якій знаходиться крапля зафарбованої води. Якщо об'єми газів, які обмінюються при диханні однакові, то крапля рідини в трубці не рухатиметься.

Якщо ж ДК більший або менший за одиницю, то в трубці крапля переміщується.

Мета роботи – визначити дихальний коефіцієнт проростаючого насіння за співвідношенням відстаней, яку проходить крапля води у пробірці з лугом та без нього.

Хід роботи. Щоб визначити ДК пророслого насіння, беруть дві пробірки, два гумових корки з вставленими в них зігнутими скляними трубками, штатив і монтують прилад. В одну пробірку насипають (приблизно 1/4 об'єму) пророслого насіння пшениці, жита або ячменю, а в другу - соняшника, конопель або іншої олійної культури. Обидві пробірки щільно закривають корками з скляними зігнутими градуйованими трубками, в які вводять по краплі зафарбованої води, створюючи цим самим всередині приладу замкнену атмосферу. Поки триватиме дослід, температура повинна бути сталою. Для цього прилад закріплюють у штатив. В приладі, де в пробірці знаходилося насіння пшениці чи ячменю, крапля не зрушила з місця, тому що тут відбувається дихання за рахунок вуглеводів і об'єми газів однакові, тобто $DK=1$.

Коли крапля води в приладі з соняшником відірветься від краю трубки, відмічають положення внутрішнього меніска краплі, а ще через 5 хв - другий відлік, перевертають пісковий годинник і після 5 хв роблять третій відлік. Після цього знаходять середню відстань яку пройшла крапля за 5 хв. Ця відстань відповідатиме різниці між об'ємами поглинутого насінням O_2 і виділеного $CO_2(A, мм)$.

Далі корок з трубкою обережно виймають з пробірки, провітрюють її і пінцетом кладуть у пробірку клаптик фільтрувального паперу, змоченого в концентрованому розчині лугу (папірець не повинен торкатися насіння). Після цього пробірку знову щільно закривають корком, вводять у трубку нову краплю води і повторюють ті ж самі операції, що й в першому випадку. Тепер середня відстань, яку пройде крапля за 5 хв, виражатиме об'єм поглинутого в процесі дихання кисню ($B, мм$), оскільки виділена вуглекислота поглинається лугом. Якщо позначити об'єм поглинутого кисню $-O_2$, а об'єм вуглекислого газу $-CO_2$, то знаючи A і B , легко знайти дихальний коефіцієнт:

$$DK = \frac{CO_2}{O_2} = \frac{B - A}{B}$$

Результати дослідів записують за такою схемою:

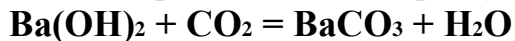
Об'єкт	Швидкість руху краплі, мм/хв								ДК $\frac{B - A}{B}$
	без луку (A)				з лугом (B)				
	1	2	3	середнє	1	2	3	середнє	

Роблять висновок про залежність величини дихального коефіцієнта від природи окислювальних речовин.

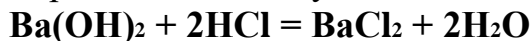
РОБОТА № 26
ВИЗНАЧЕННЯ ІНТЕНСИВНОСТІ ДИХАННЯ ЗА КІЛЬКІСТЮ
ВИДІЛЕНОГО ДІОКСИДУ ВУГЛЕЦЮ (ЗА БОЙСЕН – ІЄНСЕНОМ)

Матеріали та обладнання: 1) проросле і не проросле насіння, бруньки, листки, стебла, квітки і інший рослинний матеріал; 2) 0,025 Н розчин Ва(ОН)₂; 3) 0,025 Н розчин НСІ; 4) фенолфталеїн; 5) технічні терези; 6) однакові конічні колби на 250-300 мл (3шт); 7) марлеві мішечки (2шт); 8) бюретки (2шт).

Основні відомості. Для визначення інтенсивності дихання за кількістю виділеного вуглецю в конічну колбу вміщують наважку досліджуваного матеріалу (2-3 г) і певну кількість розчину лугу (25 мл). Діоксид вуглецю, що виділяється в процесі дихання, реагує з лугом:



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



Порівнюють одержувану величину з результатом титрування такої ж кількості вихідного розчину лугу. Останнє потрібно для визначення початкової концентрації лугу і для обліку невеликої кількості СО₂, що була в посудині до досліду, а також поглинутого лугом під час відкривання посудини. Різниця між результатами титрування контрольної і дослідної посудини прямо пропорційна кількості виділеного під час дихання СО₂.

Тривалість експозиції залежить від маси наважки та інтенсивності дихання досліджуваного об'єкту. При дуже короткій експозиції різниця між результатами титрування контрольної і дослідної і дослідної колб буде недостовірною. Навпаки, якщо в колбі залишається дуже мало бариту, то може відбутися неповне поглинання СО₂. Тому, бажано підібрати таку експозицію, щоб на зв'язування СО₂ було використано 20-50% лугу (якщо, наприклад, на титрування бариту в контрольній колбі пішло 10 мл НСІ, то на титрування розчину в дослідній колбі повинно піти не більше 8 і не менше 5 мл).

Мета роботи – визначити інтенсивність дихання досліджуваних зразків рослин за кількістю затраченого на титрування біриту НСІ.

Хід роботи. Наважку пророслого насіння (2-3 г) або іншого досліджуваного матеріалу висипають у марлевий мішечок і закріплюють його гачечком до гумового корка (мішечок повинен легко проходити крізь горловину колби і не торкатись розчину). Коли все підготовлено, в колбу швидко наливають 25 мл 0,025 Н розчину Ва(ОН)₂, додають 2-3 краплі фенолфталеїну, відразу опускають в колбу мішечок з насіння і щільно закривають колбу гумовим корком. У контрольну колбу наливають таку саму кількість бариту і фенолфталеїну, але досліджуваний матеріал в неї не опускають.

Колби з об'єктами, що містять хлорофіл потрібно на весь період досліду поставити в темне місце для виключення процесу фотосинтезу. Через 1-2 години насіння чи інший досліджуваний матеріал виймають, колби швидко

закривають корками з бюретками і відтитровують залишок бариту 0,025 Н розчином соляної кислоти до зникнення рожевого забарвлення. Вміст контрольної колби титрують через 20 хв. після заповнення її розчином Ва(ОН)₂. За цей час колбу періодично збовтують (дослідні колби також легенько збовтують, щоб на поверхні рідини не утворювалася плівка ВаСО₃).

Інтенсивність дихання вираховують за такою формулою:

$$I_d = \frac{(a - b) \times K \times 0.55}{p \times T}, \text{ де:}$$

I_d - інтенсивність дихання досліджуваного матеріалу, мг СО₂ на 1 г за 1 годину;

a - кількість 0,025 Н розчину НСІ, використаного на титрування контролю, мл;

b - кількість 0,025 Н розчину НСІ, яку використано на титрування дослід, мл;

K - поправка до титру розчину НСІ, мл;

p - наважка, г;

t - тривалість дослід, год.

Результати дослід записують за такою схемою:

Об'єкт	Варіант дослід	Маса проби, гр	Тривалість дослід, год т	Використано на титрування 0,025 Н розчину НСІ, мг		Поправка до титру НСІ, К	Інтенсивність дихання мг/г/год I_d
				контроль, а	дослід, в		

Під час цієї роботи вивчають інтенсивність дихання сухого, набубнявілого, пророслого насіння, листків, квіток, бруньок різних культур за звичайних умов і під впливом різних температур. На підставі добутих середніх даних дослід роблять висновок про вплив досліджуваного фактору на інтенсивність дихання об'єкта, вибраного для дослідів.

РОБОТА № 27 **ВИЗНАЧЕННЯ ВИДІЛЕНОГО ТЕПЛА ПРИ ДИХАННІ НАСІННЯ, ЩО ПРОРОСТАЄ**

Матеріали та обладнання: 1) плоди каштану, дуба, ліщини, що накілчилися; 2) концентрований розчин КОН; 3) термоси (3 шт.); 4) термометри з поділками до 0,1⁰С (4 шт.); 5) стакани на 50 мл (3 шт.); 6) марля.

Основні відомості. Утворена у процесі фотосинтезу органічна речовина і нагромаджена у ній хімічна енергія не можуть безпосередньо використовуватися клітиною. Окислювальний розпад складних органічних сполук до проміжних та найпростіших кінцевих продуктів, вуглекислоти і води з виділенням доступних форм енергії відбувається у процесі дихання. Схематично дихання зображують таким рівнянням:



Отже, суттю дихального процесу, якщо він відбувається до кінця, є пов'язане з окислювальним розпадом органічних речовин здобування енергії. Тому найважливішою, хоча і не єдиною, функцією біологічного окислення вважають постачання організму доступною для використання формою енергії – АТФ. Іншою формою хімічної енергії, що може легко утилізуватися, є відновний потенціал типу НАДН чи НАДФН. Саме АТФ і НАДН у ході метаболічних процесів перетворюються в інші форми хімічної енергії і лише у відпрацьованому вигляді виділяються як теплова енергія.

Однак до цього часу сумарний енергетичний ефект від біологічного окислення різних органічних речовин вимірюють не кількістю синтезованих молекул АТФ і НАДН, а тепловим ефектом, що виникає при спалюванні цих речовин у калориметричній бомбі. Для глюкози це становить 4 ккал/г, білка – 5,7, жиру – 9,2 ккал/г. Загальна закономірність така: чим більше входить до складу молекули водню і менше кисню, тим калорійність вища.

Проте у живому організмі не весь водень перетворюється в універсальну форму енергії. Так, кількість молів АТФ на 1 г глюкози становить 0,21, на 1 г білків – 0,18, жирів – 0,51. Очевидно, різниця в енерго- і теплоємності різних речовин виявляється у різній зміні температури матеріалу, то дихає.

Мета роботи – виміряти кількість тепла, яке виділяється при диханні пророслого насіння різних видів рослин.

Хід роботи. У термоси місткістю 250 мл ставлять по стакану розчином КОН і закривають марлею. Потім у термоси засипають по 50–100 г насіння пшениці, гороху і соняшнику, що проростає. Термоси закривають корковими пробками, в які вставлені термометри. Кульки термометрів повинні бути занурені у насіння. Порівнюючи показники термометрів, що вмонтовані у термоси, з показником зовнішнього термометра, встановлюють кількість тепла, яке виділяється насінням, що проростає.

Результати спостережень записують у таблицю:

Об'єкт	Температура		Підвищення температури, град.	Переважаючий тип запасних речовин
	зовнішня	у термосі		
Пшениця				
Горох				
Соняшник				

Зробити висновки про залежність дихання насіння різних видів рослин від типу запасних речовин.

ВИЗНАЧЕННЯ ПОРІВНЯЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ ДЕГІДРОГЕНАЗ В РІЗНИХ РОСЛИННИХ ТКАНИНАХ

Матеріали і обладнання: 1) набубнявіле насіння гороху та пшениці; 2) бульби картоплі і коренеплоди цукрових буряків; 3) олія; 4) 0,05%-вий водний розчин метиленового синього; 5) 0,87%-ний водний розчин K_2HPO_4 ; 6) вага; 7) спиртівка; 8) сірники; 9) водяна баня; 10) термостат; 11) скальпель; 12) стулка; 13) фарфорові чашки; 14) пробірки в штативі; 15) лійка.

Мета роботи – зробити висновок про дію анаеробних дегідрогеназ по відновленню барвника метиленового синього до лейкоформи.

Хід роботи. Для визначення використовують безбарвний рослинний матеріал (бульби, корені, насіння). При використанні насіння з нього попередньо знімають оболонку, бо вона може мати дубильні речовини, які пригнічують, активність ферментів. Крім того, оболонки майже не мають дегідрогеназ.

Беруть 1 г рослинного матеріалу, розтирають в ступці в 5 мл 0,87%-ного розчину K_2HPO_4 і переносять всю суміш в пробірку. Пробірку ставлять на водяну баню або в термостат з температурою 37 °С.

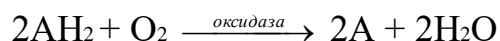
Через 15 хв. в пробірку добавляють 1 мл водного розчину метиленового синього (0,05%) і добре перемішують. Для створення анаеробних умов поверхню розчину в пробірці заливають олією і ставлять на водяну баню при температурі 37°С. З цього моменту починається відлік часу досліду.

Про активність дегідрогеназ судять за швидкістю знебарвлення метиленового синього в хвилинах. На основі одержаних результатів роблять висновки про активність дегідрогеназ в різних рослинних об'єктах.

РОБОТА № 29 ВИЯВЛЕННЯ ПОЛІФЕНОЛОКСИДАЗИ І ПЕРОКСИДАЗИ В РОСЛИННИХ ОБ'ЄКТАХ

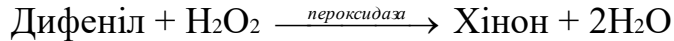
Матеріали і обладнання: 1) бульби картоплі - свіжі і варені; 2) пагони кінського каштана, дуба та інших деревних рослин, корені хрону і редьки; 3) 1%-ний спиртовий розчин гваякової смоли в крапельниці; 4) 3%-ний розчин H_2O_2 в крапельниці; 6) пінцет; 7) електроплитка; 8) тарілка; 9) фільтрувальний папір.

Основні відомості. Оксидазами називають ферменти, що активують молекулярний кисень (переносячи на нього електрони від окислюваної речовини). Активований таким чином кисень з'єднується з відщепленим від субстрату воднем, утворюючи воду або пероксид водню за схемою:



До цієї групи ферментів відноситься поліфенолоксидаза, яка окислює поліфеноли киснем повітря з утворенням відповідних хінонів.

Пероксидаза – фермент, що окислює полі феноли і ароматичні аміни киснем пероксиду водню:



Виявити поліфенолоксидазу за допомогою розчину гваякової смоли, який при наявності цього ферменту змінює забарвлення з жовтого на синій. Пояснюється це тим, що поліфеноли, які знаходяться в гваяковій смолі, нездатні доволно реагувати з молекулярним киснем, окислюються активованим киснем.

Для виявлення пероксидази можна використовувати ту ж саму реакцію окислення поліфенолів гваякової смоли. Але оскільки пероксидаза з молекулярним киснем не реагує, то до розчину гваякової смоли необхідно додати пероксид водню.

Роботу краще проводити на двох зрізах досліджуваної частини рослини, наносячи на перший зріз розчин гваякової смоли, а на другий - розчини гваякової смоли і пероксиду водню. Посиніння першого зрізу свідчить про наявність в клітинах поліфенолоксидази, тоді як посиніння другого зрізу є результат сумісної дії двох ферментів - поліфенолоксидази і пероксидази, або у випадку відсутності в даному об'єкті першого ферменту - однієї пероксидази, показник присутності обох ферментів - більш швидке посиніння другого зрізу.

Мета роботи – за допомогою перекису водню та гваякової смоли виявити пероксидазу та поліфенолоксидазу на сирих зразках рослин.

Хід роботи. На тарілку кладуть два шматочки досліджуваного об'єкта і обливають їх одноразово розчином гваякової смоли, причому Другий зріз додатково обробляють краплею розчину пероксиду водню. Для контролю обробляють таким же чином матеріал, попередньо підданий кип'ятінню. Досліджують декілька об'єктів, не допускаючи при цьому попадання соку з одного об'єкту на зріз іншого (скальпель, що використовувався для розрізування досліджених об'єктів, необхідно кожний раз мити і витирати). Результати записують в таблицю, відмічаючи швидкість появи синього забарвлення (в балах).

ОБ'ЄКТ	ПОСИНІННЯ ПРИ ДІЇ	
	гваякової смоли	гваякової смоли + H ₂ O ₂

У висновках вказують на наявність чи відсутність в досліджуваних об'єктах поліфенолоксидази і пероксидази і орієнтовно оцінюють активність цих ферментів поліфенолоксидази- по посинінню 1-го зрізу, пероксидази - по різниці швидкості посиніння другого і першого зрізів

КОНТРОЛЬНІ ЗАПИТАННЯ

з розділу

«ДИХАННЯ»

1. Загальні уявлення про дихання рослин і його фізіологічна роль.
2. Теорії дихання А. М. Баха, В. І. Палладіна, Віланда і інших.
3. Ферментативні системи дихання.
4. Гліколіз як підготовчий етап аеробного дихання, його енергетика.
5. Взаємозв'язок процесів бродіння і дихання.
6. Цикл ди- і трикарбонових кислот. Цикл гліоксалевої кислоти. Фосфоглюконатний шлях окислення вуглеводів.
7. Енергетика циклу Кребса. Окислювальне фосфорилування. Механізм переносу електронів і трансформація енергії в електронно-транспортному ланцюгу мітохондрій.
8. Дихання - центральна ланка обмінних процесів рослинного організму. Взаємозв'язок дихання з обміном азотистих речовин, вуглеводів і ліпідів.
9. Дихальний коефіцієнт і його залежність від природи окислювального субстрату.
10. Дихальний газообмін рослин як фактор продукційного процесу. Взаємозв'язок процесів фотосинтезу і дихання.
11. Дихальний газообмін фітоценозів і його залежність від умов зволоження, мінерального живлення і архітекtonіки посіву.
12. Способи керування обміном речовин.
13. Роль дихання у адаптації рослин до несприятливих умов існування.

РОЗДІЛ 7

ФІЗІОЛОГІЯ ОНТОГЕНЕЗУ

РОБОТА № 30

ВИЗНАЧЕННЯ ЗОН РОСТУ ОРГАНІВ РОСЛИН.

Матеріали і обладнання: 1) проростки соняшнику висотою 2-3 см, гороху і квасолі, вирощеної в темному місці; 2) туш; 3) препарувальна голка або дерев'яна паличка; 4) лінійка; 5) проростки гороху з корінчиками, довжиною 1,5–2 см; 6) голки; 7) склянка; 8) фільтрувальний папір; 9) термостат.

Основні відомості. Для вивчення ростових процесів широко використовують метод нанесення міток на поверхню органу через певні проміжки. По мірі росту органу відстані між мітками збільшуються і можуть бути використані для характеристики інтенсивності росту різних ділянок зони росту органу. Мітки наносять тушшю. Для нанесення міток можна використати тонко загострену дерев'яну паличку, нитку або препарувальну голку, змочену в туші.

Мета роботи. Визначити зони росту кореня.

Хід роботи. Беруть насіння гороху або квасолі і пророщують у зволоженій тирсі (попередньо скляною паличкою роблять в ній заглиблення для вільного і вертикального росту кореня). Потім на невеликих (довжиною 1,5-2 см) зовсім прямих, попередньо обережно підсушених фільтрувальним папером коренях (3-4 шт) наносять мітки, починаючи від кінчика кореня. Відстань між мітками 1 мм. Мітки повинні бути тонкими і чітко вираженими. Потім проростки наколюють на голку і прикріплюють до дерев'яної пластинки корінцями вниз. В банку наливають 1/3 об'єму води, а стінки зсередини обгортають фільтрувальним папером. Щоб насіння не підсихало дерев'яну пластинку також обгортають фільтрувальним папером. Банки з насінням ставлять в термостат з температурою 20-25° С. Через 24 години вимірюють відстань між Мітками (при збільшенні ширини самих міток, вимірюють з їх середини) і вираховують середній добовий приріст різних ділянок кореня.

Результати виражають графічно, відкладаючи на вісі абсцис номери відрізків, а на вісі ординат - прирости.

Результати досліду записують за такою схемою:

№ проростка	Зони приросту, мм													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	

Роблять висновки про характер росту кореня.

Визначення зони росту стебла.

Метод оснований на обліку приростів різних ділянок стебла за Добу.

Хід роботи. На 4-х проростках соняшнику висотою 2-3 см тушшю наносять (починаючи з верхівки проростка) по 10 міток на відстані 2 мм одна від одної.

Проростки ставлять в темному місці при 20-25°С, через добу вимірюють відстань між мітками і вираховують приріст різних ділянок стебла. Результати досліду записують в зошит і складають графік, відкладаючи на вісі абсцис порядковий номер мітки, а на вісі ординат - приріст. Результати досліду вираховують по схемі, яка використовується при визначенні зони росту кореня.

Роблять висновок про характер росту стебла.

РОБОТА № 31 ВИЗНАЧЕННЯ РОСТУ ЗА ДОПОМОГОЮ ГОРИЗОНТАЛЬНОГО МІКРОСКОПА.

Матеріали і обладнання: 1) чашка Петрі з проростками озимої пшениці або ячменю; 2) горизонтальний мікроскоп; 3) окуляр-мікрометр.

Основні відомості. Метод заснований на обліку зміщення наростаючого кінчика кореня стебла або стебла в поділках окуляр-мікрометра через певні проміжки часу.

Хід роботи. Перед об'єктивом горизонтального мікроскопа закріплюють рослини так, щоб в полі зору мікроскопа було видно кінчик стебла.

Співставляють кінчик стебла з якою-небудь поділкою, шкали окуляр-мікрометра і відмічають зміщення наростаючого кінчика через кожні 10 хв. на протязі 1 години. За одержаними даними будують графік.

Результати досліду розраховують за слідкуючою схемою:

Час спостереження, хв	10	20	30	40	50	60
Підрахунки в поділках окуляр - мікрометра						
Приріст в поділках окуляр - мікрометра						

На основі одержаних даних роблять висновки.

КОНТРОЛЬНІ ЗАПИТАННЯ з розділу «ФІЗІОЛОГІЯ ОНТОГЕНЕЗУ»

1. Поняття про ріст і розвиток рослин.
2. Фази розвитку клітини.
3. Фітогормони, місце їх синтезу, транспорт і спектр біологічної дії.
4. Механізм дії фітогормонів..
5. Ретарданти.
6. Дія гербіцидів і арборицидів на деревні рослини.
7. Використання фітогормонів і їх синтетичних аналогів у рослинництві і плодівництві.
8. Типи росту органів рослин.
9. Залежність росту від зовнішніх і внутрішніх факторів.
10. Закон великого періоду росту і інтенсивності річного приросту окремих органів деревних рослин.
11. Генетична обумовленість росту. Тополевий і дубовий типи росту рослин.
12. Добова і сезонна динаміка росту деревних рослин у висоту і по діаметру.
13. Вегетативний і генеративний періоди розвитку деревних рослин і їх взаємозв'язок.
14. Кореляція ростових процесів органів рослин.
15. Явище полярності у рослин.
16. Подразнення, збудження і реакція в рослин.
17. Тропізми і настії.
18. Спокій рослин і його види.
19. Фізико-хімічні і біологічні основи спокою рослин.
20. Штучне переривання спокою бруньок деревних рослин.
21. Фізіологія проростання насіння.
22. Роль внутрішніх і зовнішніх факторів у проростанні насіння.
23. Онтогенез рослин.
24. Теорії індивідуального розвитку рослин.

25. Роль фізичних і хімічних факторів у формотворчих процесах.
26. Вплив фізичних і хімічних факторів на розвиток рослин.
27. Вплив зовнішніх факторів на цвітіння і плодоношення дерев.
28. Фізіологічні основи цвітіння і запліднення рослин.
29. Сексуалізація у дерев. Фізіологія переходу деревних рослин до репродуктивного періоду.
30. Способи розмноження рослин. Методи прогнозування і стимулювання плодоношення лісових дерев.
31. Взаємозв'язок вікових змін і генеративного розвитку рослин.
32. Органогенез основних сільськогосподарських культур.
33. Теорія циклічного старіння і омолодження рослин М. П. Кренке.
Гормональна теорія розвитку М. Г. Холодного та М. Х. Чайлахяна.
34. Управління вегетативним розвитком і старінням рослин.
35. Використання термоперіодизму і фотоперіодизму в лісовому господарстві.

РОЗДІЛ 8

ПРИСТОСУВАННЯ ТА СТІЙКІСТЬ РОСЛИН ДО НЕСПРИЯТЛИВИХ ЗОВНІШНІХ ФАКТОРІВ

РОБОТА № 32

ВИЯВЛЕННЯ ЗАХИСНОЇ ДІЇ ЦУКРІВ НА ЦИТОПЛАЗМУ КЛІТИН ПРИ ЗАМОРОЖУВАННІ

Матеріали та обладнання: 1) коренеплід червоного буряка; 2) 0,1 та 0,5 М розчин сахарози; 3) сніг та лід; 4) кухонна сіль; 5) лопатка для перемішування снігу; 6) термометр до - 25°C; 7) скальпель; 8) коркове свердло діаметром 5-6 мм; 9) бритва; 10) фарфорова чашка; 11) пробірки (3 шт.); 12) склянка; 13) восковий олівець; 14) шматочки фільтрувального паперу; 15) ФЕК.

Основні відомості. При замерзанні рослинних тканин в міжклітинниках утворюються кристали льоду, які відтягують воду з цитоплазми. Якщо цитоплазма недостатньо морозостійка, то вона, не витримавши зневоднення, а також механічного тиску кристалів льоду, коагулює і клітина гине. Про ступінь пошкодження цитоплазми можна робити висновок за її здатністю утримувати клітинний сік. Стійкість колоїдів, цитоплазми може бути підвищена захисними речовинами, серед яких важлива роль належить розчинним цукрам.

Мета роботи – за інтенсивністю виходу клітинного соку з пошкоджених при замерзанні зразків у різних розчинах зробити висновок про захисну дію цукрів на цитоплазму.

Хід роботи: З поперечного зрізу червоного столового буряка завтовшки 0,5 см за допомогою коркового свердла роблять висічки. Ретельно споліскують їх водою і розміщують в три пробірки по три-чотири висічки в кожную. В першу пробірку наливають 5 мл дистильованої води, в другу 5 мл - 0,5 М розчину сахарози, а в третю - 5 мл 1М розчину сахарози. На пробірки наклеюють

етикетки і на 20 хв занурюють в охолоджуючу суміш, що складається з трьох частин льоду або снігу і однієї частини кухонної солі. Потім пробірки виймають з охолоджуючої суміші, розморожують в склянці з водою кімнатної температури і визначають інтенсивність забарвлення рідини за допомогою ФЕКа при зеленому світлофільтрі (напроти дистильованої води).

Результати записують в таблицю.

Варіант	Забарвлення зовнішнього розчину	Оптична густина розчину
Вода		
Сахароза 0,1 М		
Сахароза 1 М		

У висновках пояснюють різницю між варіантами, відмітивши значення цукру як захисної речовини.

РОБОТА № 33 **ВИЗНАЧЕННЯ ЖАРОСТІЙКОСТІ РОСЛИН (ЗА Ф. Ф. МАЦКОВИМ)**

Матеріали та обладнання: 1) свіжі листки рослин; 2) 0,2 ННСІ; 3) водяна баня; 4) термометр) 5) пінцет; 6) чашки Петрі (5 шт); 7) склянки з водою; 8) восковий олівець.

Основні відомості. Якщо подіяти на листок високою температурою, а потім занурити його в слабкий розчин соляної кислоти, то пошкоджені і мертві клітини побуріють внаслідок вільного проникнення в них кислоти, яка спричинить перетворення хлорофілу в феофітин, тоді як непошкоджені клітини залишаються зеленими. В рослин з кислим клітинним соком феофітинізація може відбутися і без обробітку соляною кислотою, так як при порушенні напівпроникності тонопласту органічні кислоти проникають з клітинного соку в цитоплазму і витісняють магній з молекули хлорофілу.

Мета роботи – на основі спостереження за побурінням листків деревних рослин, витриманих у воді різної температури, зробити висновок про їх жаростійкість.

Хід роботи. Воду у водяній бані нагрівають до 40°, занурюють в неї по 5 листків досліджуваних рослин з експозицією 30 хв, підтримуючи температуру на рівні 40° С. Потім беруть першу пробу: виймають по одному листку кожного виду рослин і поміщають їх в чашку Петрі з холодною водою (на чашці потрібно зробити відповідний надпис). Піднімають температуру у водяній бані до 50 °С і через 10 хв після цього витягують з бані ще по одному листку і переносять їх в нову чашку з холодною водою. Поступово доводять температуру до 80° С, беручи проби через кожні 10 хв при підвищенні температури на 10°С.

Замінивши воду в чашках 0,2Н соляною кислотою, через 20 хв вираховують ступінь пошкодження листка за кількістю утворених бурих плям. Результати записують в таблицю, позначивши відсутність побуріння знаком "-",

слабке побуріння - "+", побуріння більше 50% листка - "++" і суцільне побуріння – "+++".

Об'єкт	Ступінь пошкодження листків при T °C				
	40	50	60	70	80

КОНТРОЛЬНІ ЗАПИТАННЯ
з розділу
« ПРИСТОСУВАННЯ ТА СТІЙКІСТЬ РОСЛИН
ДО НЕСПРИЯТЛИВИХ ЗОВНІШНІХ ФАКТОРІВ »

1. Зміни фізико-хімічних і функціональних якостей рослинних клітин і тканин при пошкодженнях.
2. Критичні періоди впливу стресових умов на рослини.
3. Вплив кисневого стресу на деревні рослини.
4. Вплив затоплення на деревні види рослин.
5. Найважливіші типи порушення метаболічних процесів в рослинах.
6. Порушення нуклеїнового обміну і активності ферментів під впливом абіотичних і біотичних факторів середовища.
7. Холодостійкість рослин.
8. Фізіолого-біохімічні зміни теплолюбних рослин при зниженні плюсових температур.
9. Засоби підвищення холодостійкості рослин.
10. Морозостійкість рослин.
11. Порушення в клітинах і тканинах, що відбуваються при їх заморожуванні.
12. Загартування рослин до мінусових температур, його фази.
13. Зворотність процесів загартування.
14. Вплив на рослину надлишку води.
15. Фактори стійкості рослин проти затоплення.
16. Жаростійкість рослин.
17. Зміни в обміні речовин, росту і розвитку рослин при дії максимальних температур.
18. Засоби підвищення жаростійкості рослин.
19. Посухостійкість рослин.
20. Особливості водообміну у ксеро- і мезофітів.
21. Засоби підвищення посухостійкості рослин.
22. Сумісна дія нестачі води та високої температури на рослину.
23. Критичні періоди в розвитку рослин по відношенню до дії високих температур і нестачі води.

ЛІТЕРАТУРА

1. Марковська О. Є., Федорчук М. І., Мринський І. М., Чернишова Є. О. Інструктивно-методичні матеріали до практичних занять з фізіології рослин. Змістова частина I, II. Херсон: РВВ Колос ХДАУ, 2019. 59 с.
2. Авксентьева О. О. та ін. Фізіологія та біохімія рослин: малий практикум: навч.-метод. посіб. ; Харків. нац. ун-т ім. В. Н. Каразіна. Харків : ХНУ ім. В. Н. Каразіна, 2018. 151 с.
3. Самойленко Т. Г., Самойленко М. О., Рожок О. Ф. Практикум з фізіології рослин: Навч. посібник. Миколаїв: МНАУ, 2013. 431 с.
4. Красноштан І. В. Фізіологія рослин : навчально-методичний посібник. Умань : ПП Жовтий, 2010. 128 с.
5. Величко Л. Н., Меркушина А. С., Чорна Л. В. Практикум з фізіології рослин. Умань, 2006. 76 с.