

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

Кафедра біології

ЛАБОРАТОРНИЙ ПРАКТИКУМ З КУРСУ

«ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН»

для студентів за спеціальністю 091 «Біологія»

Умань – 2021

Методичні вказівки підготували:

кандидат с.-г. наук, доцент Розборська Л.В.

кандидат с.-г. наук, доцент Притуляк Р.М.

кандидат с.-г. наук, доцент Заболотний О.І.

Рецензент: Л. О. Рябовол – доктор сільськогосподарських наук, професор кафедри генетики, селекції рослин та біотехнології Уманського НУС

*Затверджено і рекомендовано до друку Вченою радою факультету
плодоовочівництва, екології та захисту рослин Уманського НУС
(протокол № 1 від 29. 10. 2021 року)*

УДК 581.4(07)

Фізіологія рослин: лабораторний практикум / Л.В. Розборська, Р.М. Притуляк, О.І. Заболотний. – Умань, 2021. – 15 с.

У лабораторному практикумі викладено методики лабораторних робіт з основних розділів з курсу фізіології рослин: фізіологія рослинної клітини, структура і функції біомолекул, процеси обміну речовин в рослинному організмі, водний обмін рослин, мінеральне живлення, фотосинтез, дихання, фізіологія онтогенезу рослин, пристосування та стійкість рослин до несприятливих зовнішніх факторів. За роботами наведено теоретичне обґрунтування, принцип методу, хід аналізу, розрахунки, реактиви та обладнання, контрольні питання з розділів.

ПЕРЕДМОВА

Фізіологія рослин – це наука, яка вивчає процеси життєдіяльності рослинних організмів, відкриває можливості пізнання змін, які відбуваються в них під впливом природних і антропогенних чинників, є теоретичною основою інтенсивних технологій вирощування сільськогосподарських культур і забезпечує обґрунтований своєчасний контроль та управління ростом і розвитком рослин, формування врожаю та його якості. Тобто вона вивчає закономірності життя рослин у зв'язку з умовами їх існування і розробляє шляхи керування ними з метою оптимізації продуктивності культурних рослин, збереження і процвітання рослинного світу планети. Фізіологія рослин тісно взаємопов'язана з біохімією.

Дисципліна “Фізіологія рослин” є теоретичною основою для вивчення наступних дисциплін: агрохімія, землеробство, рослинництво, кормовиробництво, овочівництво, плідівництво, селекція, насінництво, лісівництво, фітопатологія, ентомологія, інтегрований захист рослин, технологія зберігання та переробки продукції рослинництва та ін.

Методологія вивчення фізіології рослин оснований на уявленнях про рослинний організм як складну саморегульовальну систему і викладається на різних структурних рівнях – від макромолекул до цілої рослини.

Метою вивчення даної дисципліни є формування в студентів, як майбутніх спеціалістів, фундаментальні знання із структурно-функціоної організації рослинних систем різних рівнів, основні закономірності життєвих функцій рослин та їх механізмів, уміння управляти продукційним процесом сільськогосподарських культур. Вивчаючи фізіологію рослин, слід особливу увагу звертати на фізіологічне обґрунтування одержання максимально можливого врожаю за умов обмежених ресурсів у сільському господарстві.

В результаті вивчення дисципліни студент повинен знати:

- принцип структурно-функціональної організації внутрішньо-клітинних процесів у рослин і дії первинних механізмів, на яких базуються фізіологічні процеси, їх координація і регуляція в зв'язку з навколишнім середовищем;
- взаємозв'язок між різними фізіологічними та біохімічними процесами, їх роль у житті рослин та шляхи їх регулювання в онтогенезі з метою підвищення урожайності та покращення якості продукції;
- фізико-хімічну суть фізіолого-біохімічних процесів рослинного організму;
- основні фізіологічні показники, що характеризують стан рослин в конкретних умовах вирощування;
- шляхи управління процесами фотосинтезу, дихання, росту і розвитку рослин, стійкість до несприятливих умов середовища;
- шляхи підвищення ефективності використання кліматичних та ґрунтових ресурсів зеленими рослинами в агрофітоценозі;
- фізіологічні шляхи захисту рослин від іонізуючої радіації, а також від забруднення атмосфери, ґрунту і води промисловими відходами, нераціональним використанням добрив, пестицидів, фізіологічно активних речовин тощо;
- фізіологічні основи селекції рослин та фізіолого-біохімічні тестери прогнозування біологічних властивостей посівного матеріалу;
- біохімічні та фітометричні показники посівів основних сільськогосподарських культур, динаміку зміни оптимальних значень основних фізіологічних показників в процесі росту і розвитку рослин та методи контролю і управління продукційним процесом формування високої врожайності посівів.

Студент повинен вміти:

- оцінювати фізіологічний стан рослин і створювати всі умови для успішного їх росту, розвитку та формування максимально можливого врожаю та його якості за конкретних умов господарства;
- використовувати основні фізіологічні показники рослин для створення структуризованої бази даних, що характеризує потоки і елементи системи “грунт- клімат -рослина-продуктивність”;
- визначати основні біохімічні і фітометричні показники окремої рослини і посіву загалом, а також градієнт лімітуючих факторів їх росту і розвитку;
- розробляти заходи і визначати засоби оптимізації умов використання рослинами факторів їх життя та ресурсів господарства;
- здійснювати контроль, прогноз та управління продукційним процесом формування запрограмованої врожайності.

Для виконання лабораторних робіт

необхідно мати білі халати!

Розділ I. ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИННОЇ КЛІТИНИ

Робота 1. Надходження речовин у вакуолю.

Матеріали і обладнання: 1) мікроскоп; 2) предметне і накривне скельця; 3) скальпель; 4) синя цибуля; 5) 1М розчин сечовини; 6) пінцет; 7) препарувальна голка.

Деякі речовини, зокрема сечовина, гліцерин та інші, не здатні викликати тривалий плазмоліз, тому що з їх проникнення у клітинний сік різниця концентрації, яка викликає відтік води із клітин і її плазмоліз, поступово вирівнюється, внаслідок плазмоліз змінюється деплазмолізом.

Хід роботи. Роблять тонкий зріз епідермісу синьої цибулі, який містить антоціани. Зріз вміщують в скляночку з молярним розчином сечовини. Через 5 хвилин зріз переносять на предметне скло і розглядають під мікроскопом в краплі того ж розчину. В клітинах виявляють плазмоліз. Потім цей же зріз вміщують в ту ж скляночку з розчином з сечовиною і витримують протягом години. При дослідженні зрізу під мікроскопом в клітинах спостерігається деплазмоліз.

Клітини замальовують і роблять висновки.

Робота 2. Вплив іонів калію і кальцію на стан протоплазми.

Матеріали і обладнання: 1) мікроскоп; 2) предметні і накривні скельця; 3) скальпель; 4) цибуля; 5) нейтральний червоний; 6) 1М розчин KNO_3 ; 7) 0,7М розчин $Ca(NO_3)_2$.

Хід роботи. Тонкі забарвлені нейтральним червоним зрізи епідермісу цибулі поміщають на два предметні скельця в краплі 1М

розчину KNO_3 і 0,7М розчину $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$. Накривши краплі накривним скельцем, відразу приступають до спостереження плазмолізу в клітинах. Розчин KNO_3 спочатку викликає увігнутий плазмоліз, який переходить через 15-20 хвилин у випуклий, оскільки протоплазма легко відходить від оболонки. В клітинах зрізів, які знаходяться в краплі розчину $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, спостерігається увігнутий плазмоліз, який зберігається тривалий час. Це свідчить про те, що ущільнена під впливом іонів кальцію протоплазма дуже повільно відділяється від оболонки.

Форми плазмолізу замальовують.

Робота 3. Вплив температури на проникність клітинних мембран для бетаціаніну.

Матеріали і обладнання: 1) коренеплід столових буряків; 2) коркове свердло; 3) лінійка; 4) склянки на 200 мл; 5) водяна баня; 6) термометр; 7) піпетка; 8) 8 пробірок; 9) 0,5М розчин сахарози; 10) ФЕК.

Бетаціанін - пігмент столових буряків, який знаходиться в клітинному сокові, добре розчинний у воді. Щоб потрапити у зовнішнє середовище, молекули бетаціаніну повинні пройти через тонопласт, мезопласт і плазмолему. Дифузія бетаціаніну із вакуолі в середовище може відбуватися достатньо швидко при дії різних факторів або агентів, які викликають зміну проникності мембран. Вимірюючи оптичну густину, інкубаційного середовища через певний проміжок часу, можна оцінити ступінь дії їх на проникність мембран. Цей метод використовується звичайно в прикладних дослідженнях при вивченні дії якої-небудь речовини або фактору на біологічні об'єкти.

Хід роботи. З коренеплоду столового буряка свердлом діаметром 5-7 мм вирізають стовпчики тканини, які потім розрізають на міліметрові шматочки. Намагаючись відібрати однакові за кольором, відраховують по 60 дисків, які протягом 15-20 хв. промивають проточною водою для видалення залишків бетаціаніну із пошкоджених клітин.

В 3 пробірки наливають по 10 мл води, в наступні 3 пробірки по 10 мл 0,5М сахарози. В кожен пробірник вміщують по 10 дисків буряка. 2 пробірки (одна з водою, друга з розчином сахарози) залишають при кімнатній температурі, 2 пробірки (з водою і розчином сахарози і дисками з буряка) ставлять у водяну баню з температурою $+35^{\circ}$ і відмічають час; 2 пробірки, що залишились (з водою і сахарозою і буряком) вміщують у водяну баню при температурі $+45^{\circ}$ і також відмічають час. Протягом 1 години кожні 10-15 хвилин в пробірках вимірюють вихід бетаціаніну в розчин. Для цього із дослідних пробірок, попередньо струшуючи їх вміст, піпеткою відбирають розчин в чисту пробірку і після вимірювання оптичної густини виливають розчин в ту ж саму дослідну пробірку, не втрачаючи рідини. Вимірювання оптичної щільності дослідних розчинів проводять на фотоелектроколориметрі з зеленим світлофільтром.

На основі отриманих даних про оптичну густину розчинів будують графік проникності клітинних мембран залежно від температури.

Робота 4. Зміна проникності цитоплазми при пошкодженні.

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) коренеплід столових буряків; 7) хлороформ; 8) 30%-ний розчин оцтової кислоти; 9) 50%-ний розчин етилового спирту; 10) 1М розчин KNO_3 .

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

Пігмент бетаціанін, який виділився із ушкоджених клітин, легко визначається колориметричним способом.

Хід роботи. Із обчищеного коренеплоду столового 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) вода 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 10 мл холодної водопровідної води. Через 30 хвилин після початку досліду всі пробірки інтенсивно струшують і порівнюють оптичну густину розчинів за кількістю пігменту, який вийшов з клітини, в різних варіантах за допомогою фотоелектроколориметра при зеленому світлофільтрі. Показники оптичної густини дослідних розчинів записати в таблицю в робочому зошиті.

Інтенсивність забарвлення розчинів у пробірках співставляють за показниками оптичної густини.

На основі даних спостережень роблять відповідні висновки.

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. Цитоплазма, її структурна організація і властивості.
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.
13. Взаємозв'язок і взаємодія клітин, тканин і органів рослин.
14. Принципи регуляції фізіологічних процесів.
15. Типи регуляції: генетична, гормональна, трофічна, енергетична, гідродинамічна.
16. Біоелектричні явища, їх функціональне значення.

Розділ II. СТРУКТУРА І ФУНКЦІЇ БІОМОЛЕКУЛ. ПРОЦЕСИ ОБМІНУ РЕЧОВИН У РОСЛИННОМУ ОРГАНІЗМІ

Робота 5. Визначення вмісту та якості клейковини у борошні жита і пшениці.

Матеріали і обладнання: 1) зерно пшениці і жита; 2) водопровідна вода температурою 18—20 і 50°; 3) лабораторний млинок; 4) дротяне сито № 08 (діаметр отворів 0,25—0,5 мм); 5) технічні терези; 6) фарфорова ступка; 7) чашка; 8) скляна паличка, бюкс.

Насіння культурних і дикорослих злакових рослин характеризується наявністю у ньому клейковини – білкового гумоподібного згустку, який утворюється при відмиванні водою тіста, замішаного із борошна. Розтяжність, еластичність, пружність та зв'язність цього згустку є показниками, від яких залежить якість випеченого із борошна хліба. Якість пшеничної клейковини вважається найвищою: високобілкові сорти пшениці містять 35-40% сирі клейковини, низькобілкові – 15-20%. Пшеницю вважають сильною, якщо вона містить не менше 14% білка і 28% сирі клейковини високої якості. Середня пшениця повинна містити не менше 11 % білка і 25% клейковини задовільної якості.

Сира клейковина складається приблизно на 67% із води і на 33% із сухих речовин. Основну масу сухої речовини становлять білки (88%), представлені головним чином проламінами (50%) і глютелінами (35%). У цих білках багато глютамінової кислоти і проліну, мало лізину і триптофану. Крім білків, клейковина містить золу (9%), жири (2,1%), цукри (1,2%), крохмаль (6,7%).

Отримання високоякісного хліба забезпечує тільки борошно сильної пшениці. Поліпшити технологічні показники слабкої пшениці (містить до

25% клейковини) можна, якщо до неї додати борошно сильної пшениці. Тому встановлення впливу різних факторів на утворення клейковини у пшеничному зерні має велике практичне значення.

Метод визначення вмісту та якості клейковини у борошні ґрунтується на властивості проламінів і глютелінів при набуханні у воді утворювати в'язку масу.

Хід роботи. Зважують 50 г зерна, подрібнюють на лабораторному млинку і просіюють через дротяне сито. Борошно перемішують, беруть наважку 10 г, висипають у фарфорову ступку, доливають 5 мл води і за допомогою скляної палички замішують до однорідної маси. З отриманого тіста роблять грудочку, переносять у чашку з водою і для рівномірного просочення залишають на 30 хв. Після цього тісто переминають пальцями, промиваючи під струменем водопровідної води температурою для пшеничного борошна 18-20°, для житнього – 50°. Відмивання проводять над ситом, не допускаючи втрат клейковини. Промивання закінчують, якщо вода, що стікає, стає прозорою, а тісто від дії розчину йоду не синіє.

Відмитий білковий згусток віджимають, кладуть у тарований бюкс і зважують. Після цього клейковину промивають ще 5-10 хв і знову зважують. Промивання припиняють, якщо різниця між двома зважуваннями не перевищує 0,1 г. Вміст сирої клейковини (К) у борошні розраховують та такою формулою:

$$K = \frac{b \cdot 100}{a},$$

де b – маса сирої клейковини; a – наважка борошна.

Роблять висновок про якість клейковини зерна пшениці і жита за такими показниками: кольором, еластичністю, пружністю, розтяжністю.

Робота 6. Визначення запасних поживних речовин.

Матеріали і обладнання: 1) набубнявіле насіння різних рослин (пшениці, гречки, соняшника, гороху та інших); 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.

Запасні речовини, що відкладаються в різних органах (вмістилищах) рослини, різні за хімічною природою. Але основними є три групи: безазотові 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.

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, цибулю, плоди груші або винограду;

-для відкриття крохмалю - зернівки злаків, насіння бобових, бульби картоплі;

-для відкриття інуліну - коренебульби жоржини, бульби земляної груші.

-для відкриття жирів - насіння рицини, соняшнику, льону, конопель;

-для відкриття білків - 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 на предметному склі, накривають накривним скельцем і роздивляються в мікроскоп. Крапельки жиру, що витікають із тканин; забарвлюється в моркв'яний 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 7. Виявлення аспарагіну в проростаючому насінні бобових.

Матеріали і обладнання: 1) 10-добові проростки насіння жовтого люпину; 2) етиловий спирт; 3) предметне скло; 4) лезо бритви; 5) мікроскоп; 6) спиртівка.

В проростаючому насінні, особливо в тому, що містить багато запасних білків, бобових рослин, накопичується велика кількість аспарагіну (неповний амід аспарагінової або бурштинової кислоти) - $\text{CO}(\text{NH}_2)\text{CH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$, який зв'язує аміак, що утворився при дезамінуванні амінокислот. В результаті розпаду білка вміст аспарагіну, який накопичується в проростках, може складати 50-60% всієї кількості білків, що були в насінні до проростання.

Аспарагін екстрагується етиловим спиртом, а при висиханні препарату викристалізовується в вигляді кристалів скоріше всього ромбічної форми.

Хід роботи. Для досліду беруть 10-12 денні проростки жовтого люпину, вирощених в вологій тирсі в темноті за температури 15-20 °С.

Готують тоненький зріз з підсімядольного коліна проростка люпину і розміщують його на предметному склі у велику краплю етилового спирту. Після випарування спирту з препарату, роздивляються кристали аспарагіну під мікроскопом. Щоб відрізнити їх від інших речовин, можна використати наступні властивості аспарагіну: - при нагріванні препарату до 100°C кристали аспарагіну втрачають кристалізаційну воду, сплавляються в безкольорові краплі, які при 200° С буріють і розкладаються з виділенням газу.

Записують реакцію синтезу аспарагіну і замальовують його кристали.

Робота 8. Активність протеолітичних ферментів у зерні пшениці і гороху.

Матеріали і обладнання: 1) борошно із зерна пшениці та гороху; 2) 0,2 н. спиртовий розчин КОН; 3) фенолфталеїн; 4) дистильована вода; 5) термостат; 6) колби на 100 та 150 мл (по 4 шт.); 7) спиртівка; 8) сірники.

Протеолітичні ферменти (або протеази) каталізують гідролітичне розщеплення білків та поліпептидів, розриваючи пептидний зв'язок $-\text{CO}-\text{NH}-$. Протеази діляться на пептидази (розщеплюють поліпептиди та дипептиди) і протеїнази (безпосередньо гідролізують білок). У результаті гідролізу білка протеїназами утворюються пептони, поліпептиди та вільні амінокислоти. Однак дія протеїназ цим не обмежується. Протеїнази здатні розщеплювати поліпептиди, складноєфірні та амідні зв'язки, а також переносити залишки амінокислот від однієї сполуки до іншої. Типовим представником протеїназ є папаїн, який можна вилучити із молочного соку, насіння рослин та із дріжджів.

Активність дії протеїназ у зерні злакових і бобових рослин різна, що можна визначати автолітичним методом. Про активність протеаз свідчить зміна кислотності середовища за певний час.

Хід роботи. У колбу на 100 мл переносять 2–3 г борошна, додають 60 мл дистильованої води, помішають у термостат (на автоліз) на 2-3 год при температурі $35 \pm 1^\circ$. Паралельно ставлять контрольну пробу, яку перед цим 5 хв. кип'ятять, завдяки чому ферменти переходять у недіючий стан (інактивуються). Потім вміст колб переносять у колби більшого об'єму, змиваючи їх водою. У колби додають 4-5 крапель фенолфталеїну і титрують 0,2 н. розчином КОН до появи рожевого забарвлення, яке не зникає протягом 1 хв. Збільшення кислотності у дослідній пробі відбувається за рахунок дії протеаз.

Кількість амінного азоту (А, мг) розраховують за такою формулою:

$$A = \frac{2.8 \cdot K \cdot (a - b)}{n \cdot t},$$

де 2,8 – кількість азоту, яка еквівалентна 1 мл 0,2 н. розчину КОН, мг; К – коефіцієнт до титру КОН; а – кількість лугу, витраченого на титрування дослідної проби, мл; в – кількість лугу, витраченого на титрування контрольної проби; н – наважка, г; t – час автолізу, год.

Порівнюють активність протеаз у зерні злакової і бобової рослин, роблять висновки про причини зміни активності.

Робота 9. Перетворення речовин під час проростання насіння.

Матеріали і обладнання: 1) сухе і проросле насіння пшениці і рицини, або соняшнику (насіння пророщують в повній темряві на вологому піску); 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) лезо; 14) предметні та накривні скельця; 15) мікроскоп; 16) фільтрувальний папір; 17) сірники.

Насіння містить велику кількість запасних речовин – білків, жирів, вуглеводів, тощо. В насінні одних рослин, наприклад рицини, соняшнику 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.

Хід роботи. Розтирають в 4-х ступках непроросле і проросле насіння - крохмалисте (пшениця); олійне (рицина). Перед подрібненням з насіння олійних культур бажано зняти шкірочку. Досліджуваний матеріал розміщують в різні пробірки, ж наклеєними етикетками, заливають невеликою кількістю води, нагрівають в кип'яченій 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 непророслого і пророслого насіння олійних культур, 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 зерен сухого і пророслого насіння пшениці препарувальною голкою з розрізаної вздовж зернівки беруть крупинку борошна (ендосперму) поблизу зародка, розтирають в краплі води на предметному склі, роздивляються при великому збільшенні і замальовують крохмальні зерна (в пророслого насіння - на різних стадіях розпаду).

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

Насіння	Крохмаль	Редукуючи цукри	Жир
Крохмалисте сухе			
Крохмалисте проросле			
Олійне сухе			
Олійне проросле			

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 крохмалючого насіння і багатого на жири.

Робота 10. Колориметричний метод визначення вмісту білка за біуретовою реакцією.

Матеріали і обладнання: 1) горохове борошно; 2) 0,2%-ний розчин їдкого натру в 50%-ному етиловому спирті; 3) 5%-ний розчин сульфату міді; 4) 30%-ний розчин їдкого натру; 5) ФЕК-56М; 6) ступка фарфорова; 7) мірна колба на 50 мл; 8) колба Бунзена; 9) скляний фільтр № 3; 10) піпетки; 11) паперові фільтри; 12) кварцевий пісок.

Кількісне визначення білка базується на вимірюванні інтенсивності забарвлення, яке одержують в результаті реакції сірчаноокислої міді в лужному середовищі з пептидними зв'язками білка (- ОС - NH -).

Інтенсивність забарвлення корелює з вмістом білка в розчині.

Хід роботи: Наважку борошна 0,5-1г поміщають в фарфорову ступку додають біля двох грамів кварцевого піску, приливають 5 мл 0,2%-ного

розчину NaOH в 50%-ному етиловому спирті і старанно розтирають на протязі 2-3 хв. Потім додають 10 мл 0,2-ного розчину NaOH в 50%-ному етиловому спирті і знову розтирають 2 хв. Одержану гомогенну масу переносять із ступки через лійку в мірну колбу на 50 мл. Ступку тричі споліскують розчином 0,2%-ного NaOH в 50%-ному етиловому спирті і зливають в мірну колбу. Цим розчином вміст мірної колби доводять до мітки, помішують і залишають настоюватись протягом години. Через годину витяжку відфільтровують через складчастий фільтр.

Беруть 10 мл прозорого фільтрату в мірну колбу на 50 мл, добавляють 4 мл 5%-ного розчину сульфату міді і 4 мл 30%-ного їдкого натру, перемішують, доводять до мітки. Після цього проводять фільтрування через скляний фільтр № 3 в колбу Бунзена під вакуумом. Прозорий синьо-фіолетовий розчин колориметрують на ФЕК-56М з червоним світлофільтром № 8.

Розрахунок вмісту білка проводять за формулою:

$$X = \frac{a \times V \times 100}{v \times n \times 1000}$$

де: X – вміст білка в %

a – вміст білка, знайдений за калібрувальною кривою, мг;

V – загальний об'єм розчину (50 мл);

100 – для перерахунку в % ;

v – об'єм вихідного розчину для колориметрування (10-20 мл);

n – наважка, г;

1000 – для перерахунку в мг.

Записують результати аналізу і роблять висновки.

Робота 11. Виявленні амілази у проростаючому насінні.

Матеріали і обладнання: 1) проросле і непроросле насіння пшениці і інших 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).

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 тім числі ферментів.

В цій роботі вивчається позаклітинна дія амілази на крохмаль. В рослинах зустрічаються дві амілази: α -амілаза, яка викликає розпад молекули крохмалю на великі осколки (декстрини) 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.

Хід роботи. Розрізають декілька непророслих зерен навпіл, злегка змочують водою і розкладають пінцетом на одній половині пластинки з крохмального агару поверхнею зрізу донизу, не вдавлюючи насіння в пластинку. На другу половину агарової пластинки вміщають декілька пророслих насінин 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 насіння і обливають всю пластинку слабким розчином йоду. Відмічають результат і дають відповідь на наступні запитання:

- 1) яку дію виявило насіння на пластинку ?
- 2) чому проросле і непроросле насіння виявило неоднакову дію ?

Робота 12. Оцукрювання крохмалю амілазою.

Матеріали і обладнання: 1) 1%-й крохмальний клейстер; 2) витяжка солоду; 3) розчин йоду в KI; 4) рідина Фелінга; 5) пробірки (12 шт.); 6) водяна баня; 7) термометр; 8) піпетки на 1-2 мл (2 шт.); 9) спиртівка; 10) сірники.

Крохмаль являє собою типовий резервний полісахарид з емпіричною формулою $(C_6H_{10}O_5)_n \cdot nH_2O$. Відкладається він у вигляді зерен у бульбах, коренях, плодах. Особливо багато його міститься у зерні рису (до 80%), пшениці (75-80%), бульбах картоплі (25%).

Природний крохмаль складається із двох фракцій: 25% амілози, що має ниткоподібну лінійну структуру, та 75% амілопектину з розгалуженими вуглецевими ланцюгами. Обидві форми після ферментативного гідролізу здатні однаковою мірою використовуватися як енергетичний і будівельний матеріал, особливо необхідний при проростанні насіння.

Крохмаль нерозчинний у холодній воді. Однак при нагріванні його розчинність підвищується, оскільки відбувається розпад полісахариду до більш простих сполук, які називають декстринами. Цей процес можна прискорити, якщо розчин нагрівати з 10%-ю сірчаною кислотою. У процесі тривалого гідролізу з крохмалю можна одержати глюкозу. Аналогічним способом гідролізують крохмаль α - і β -амілази: спочатку утворюються декстрини, потім – дисахарид мальтоза і кінцевий продукт гідролізу – глюкоза. Активні амілази містяться у солоді – подрібненому зерні злаків, що проросло.

За процесом гідролізу крохмалю амілазою можна простежити за допомогою кольорових реакцій, що утворюють проміжні продукти з розчином йоду. Цей розчин забарвлює крохмаль у синій колір, амілодекстрин – у фіолетовий, еритродекстрин – у червоний, ахродекстрин – в оранжевий; більш дрібні молекули (мальтодекстрин, маптьоза і глюкоза) з йодом забарвлення не утворюють.

Хід роботи. У кілька пробірок (8-10 шт.) наливають по 10 мл розчину йоду. Нагрівають водяну баню до температури 45° (можна використати фарфорові стакани з водою потрібної температури).

В окремі три пробірки наливають по 1 мл витяжки солоду. В одній пробірці розчин кип'ячать 5 хв. для інактивації ферменту, потім в усі три пробірки доливають по 10 мл крохмального клейстеру і перемішують. Першу дослідну пробірку залишають при кімнатній температурі, а другу дослідну і контрольну (прокип'ячену) поміщають у водяну баню. негайно беруть з усіх пробірок по 0,5 мл рідини і переносять її у перші три пробірки з розчином йоду. Потім проби беруть із першої дослідної пробірки через кожні 3 хв, із другої дослідної – через 1 хв., із контрольної – через 5 хв. Зміна кольору розчинів свідчить про швидкість перетворення крохмалю у мальтозу.

Після завершення реакції у пробірки з ферментами додають однакові об'єми розчинів Фелінга 1 і 2 (по 3 мл кожного). Вміст пробірок нагрівають на спиртівці. Одержаний червоний осад закису міді вказує на присутність у розчині відновлюваного цукру – глюкози. У пробірці, де розчин ферменту кип'ятили, крохмаль залишається без змін, і осад закису міді не утворюється.

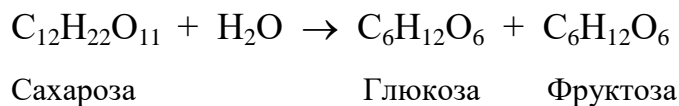
Пробірки з найбільш відмінними розчинами замальовують і роблять висновок про вплив температури на активність амілаз, а за кольором визначають речовини, що містяться у пробірках.

Робота 13. Гідроліз сахарози β-фруктофуранозидазою.

Матеріали і обладнання: 1) сухі хлібні дріжджі; 2) 1%-й розчин сахарози; 3) реактив Фелінга 1; 4) реактив Фелінга 2; 5) тепла вода; 6) фарфорова ступка; 7) лійка; 8) паперовий фільтр; 9) пробірка (2 шт.); 10) водяна баня; 11) спиртівка; 12) сірники.

Сахароза є одним із найбільш поширених і важливих дисахаридів. У її побудові беруть участі перший вуглецевий атом глюкози та другий вуглецевий атом фруктози, тому сахароза – нередукуючий цукор. Саме ця властивість зумовлює стабільність її молекули, що дозволяє їй без змін переміщуватися на далекі відстані і бути основним транспортним вуглеводом у рослині. Сахароза нагромаджується у стеблах, коренях, бульбах та плодах рослин, зокрема у коренеплодах цукрових буряків її міститься до 24%, у стеблах цукрової тростини – близько 20%.

Гідроліз сахарози до глюкози і фруктози відбувається зі допомогою ферменту β-фруктофуранозидази (сахарази, інвертази):



Цей процес називається інверсією цукру, а гідролізована сахароза – інвертним цукром.

Мета роботи – здійснити інверсію сахарози та встановити у розчині її складові. Останнє досягається за допомогою рідини Фелінга.

Хід роботи. До 1 г розтертих у ступці хлібних дріжджів додають приблизно 10 мл теплої води (40°) і залишають суміш на 10 хв. Після настоювання масу ще розтирають і фільтрують через складчастий фільтр. Одержаний фільтрат містить фермент, який вивчають.

У дві пробірки наливають по 2 мл фільтрату. Вміст однієї пробірки кип'ятять протягом 5 хв. для інактивації ферменту. В обидві пробірки додають по 10 мл розчину сахарози, після чого їх ставлять у водяну баню з

температурою 40° на 15 хв. За цей час сахароза перетворюється в інвертований цукор, тобто суміш глюкози з фруктозою. Щоб переконатися у цьому, слід провести реакцію на відновлювані цукри з реактивом Фелінга. Для цього у пробірках залишають по 3 мл рідини і доливають по 3 мл реактиву Фелінга 1 і 2, потім вміст пробірок кип'ятять на спиртівці (3 хв. від початку кипіння). У пробірці з активним ферментом випадає червоний осад закису міді, у контрольній пробірці (розчин прокип'ячений) осад закису міді не утворюється, оскільки нерозщеплена сахароза Фелінгову рідину не відновлює.

Пробірки замальовують і роблять висновок про відміни у хімічних властивостях моно- і дисахаридів.

. КОНТРОЛЬНІ ЗАПИТАННЯ

з розділу:

" СТРУКТУРА І ФУНКЦІЇ БІОМОЛЕКУЛ. ПРОЦЕСИ ОБМІНУ РЕЧОВИН У РОСЛИННОМУ ОРГАНІЗМІ"

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.

Розділ III. ВОДНИЙ ОБМІН РОСЛИН

Робота 14. Визначення осмотичного тиску клітинного соку методом плазмолізу (за Де-Фрізом).

Матеріали і обладнання: 1) синя цибуля або листки традесканції; 2) ІМ розчин NaCl , KNO₃ чи сахарози; 3) дистильована вода; 4) бюретки (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.

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 слідуючим (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 $P=RTcI$, 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.

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 15. Визначення сисної сили клітин за зміною концентрації розчинів (за М.А. Максимовим і М.С. Петиним).

Матеріали і обладнання: 1) свіжі листки яких-небудь рослин; 2) 1М розчин сахарози; 3) дистильована вода; 4) рефрактометр; 5) коркове свердло діаметром 5-7 мм; 6) препарувальна голка; 7) термометр; 8) двохрядний штатив з пробірками: в одному ряду – звичайні пробірки з корками (7 шт.), в другому – маленькі пробірки об'ємом 3-4 мл з корками (7 шт.); 9) великий корок; 10) скляна паличка; 11) піпетки на 1 мл; 12) шматочки фільтрувального паперу.

Сила, з якою клітина здатна поглинати воду, називається сисною силою. На відміну від будь-якого розчину, всмоктуюча сила якого рівна його осмотичному тискові, сисна сила рослинної клітини, целюлозна стінка якої перешкоджує надходженню води, рівна різниці між осмотичним тиском клітинного соку (P) і тургорним тиском (T) : $S = P - T$.

При зануренні клітини в будь-який розчин водообмін між ними визначається співвідношенням їх всисних сил і вода пересувається в той бік, де більша сисна сила.

Для визначення сисної сили клітин шматочки досліджуваної тканини занурюють в ряд розчинів відомої концентрації і підбирають такий розчин, всисна сила якого рівна всисній силі клітини. На відміну від плазмолітичного методу визначення осмотичного тиску клітинного соку, де критерієм служить початковий плазмоліз, при визначенні сисної сили клітин даним методом критерієм є незмінність вмісту води в клітинах. Найбільш точні методи визначення сисної сили клітин засновані на вимірюванні концентрації розчинів, що оточують клітини.

Якщо занурити рослинну тканину в розчин, сисна сила якого більша сисної сили клітин, то розчин буде відсмоктувати воду із клітин, внаслідок чого його концентрація зменшиться. Навпаки, якщо сисна сила клітин вища за сисну силу розчину, то клітини всисають воду із розчину, який при цьому стає більш концентрованим. При рівності сисних сил клітин і розчинів не відбувається ні всисання, ні відбирання води, внаслідок чого концентрація зовнішнього розчину залишиться сталою.

Зміну концентрації розчину можна встановити шляхом визначення показника заломлення (рефрактометричний метод) або густини розчину (метод струминок).

Хід роботи. На старанно вимиті пробірки (7 звичайних і 7 маленьких) наклеюють етикетки. Змішуючи відповідну кількість молярного розчину сахарози і дистильованої води, готують по 10мл розчинів наступних концентрацій (моль/л): 0,7 ; 0,6 ; 0,5 ; 0,4 ; 0,3 ; 0,2 ; 0,1 .Для приготування розчинів використовують великі пробірки. Після старанного перемішування відливають в маленькі пробірки по 1мл приготовлених розчинів і закривають пробірки корками.

Вирізають за допомогою гострого коркового свердла диски із листків недалеко від середньої жилки, не займаючи великих жилок. Розкладають по шість дисків в маленькі пробірки, закривають їх корками. Витримують диски в розчинах 30-40 хвилин, час від часу струшуючи вміст пробірок і слідкуючи за тим, щоб всі диски були занурені в розчин.

Після проходження вказаного часу із пробірок виймають проби листків із розчинів за допомогою препарувальної голки і закривають пробірки корками. Визначають зміну концентрації розчинів після перебування в них дисків із листків.

Між призмами рефрактометра поміщають 2-3 краплі досліджуваного розчину сахарози. Дивляться в окуляр рефрактометра, спрямовуючи за

допомогою дзеркала світло в отвір призми, суміщаючи границю світлої і темної частини поля зору з пересіченням ліній хреста (в рефрактометрах іншого типу – з пунктирною лінією), роблять відрахунки по шкалі кутів заломлення. Визначають концентрації розчинів в обох рядах пробірок.

Після кожного визначення з призм рефрактометра видаляють розчин сухим фільтрувальним папером, потім двічі протирають папером, змоченим дистильованою водою, і знову сухим папером або серветкою. Отримані результати записують у формі таблиці, визначають ізотонічну концентрацію клітинного соку і за формулою Вант-Гоффа розраховують величину сисної сили.

Молярність розчину сахарози	Коефіцієнт заломлення розчинів		Сисна Сила, МПа
	вихідні	Після перебування дисків і листків	
1	2	3	4
0,1			
0,2			

Роблять висновки про причини зміни концентрації розчинів і записують значення сисної сили клітин листків перед їх зануренням в розчин.

Робота 16. Визначення сисної сили клітин спрощеним методом (за Уршпрунгом).

Матеріали і обладнання: 1) термометр кімнатний; 2) смужка міліметрового паперу 1×10 см; 3) дерев'яна дощечка; 4) олівець по склу; 5) 7 скляночок; 6) фільтрувальний папір; 7) пінцет; 8) скальпель; 9) 2 бюретки з лійкою; 10) великі бульби

картоплі; 11) коренеплід моркви; 12) ІМ розчин NaCl, KNO₃, NaNO₃, сахарози; 13) дистильована вода.

Надходження води у клітину зумовлюється її сисною силою (S), яка залежить від ступеню насичення клітини водою. В стані повного в'янення (або початкового плазмолізу) тургорний тиск відсутній і сисна сила клітини еквівалентна її осмотичному тиску ($T=0$, $S=P$). При зануренні клітин у воду тургорний тиск досягає максимальної величини, а сисна сила падає до нуля ($T=P$, $S=0$). Клітини рослин суходолу, як правило, не бувають насичені водою, у таких клітин $T < P$, а $S = P - T$.

Визначення сисної сили клітин спрощеним методом Уршпрунга здійснюється, як і в попередній роботі, шляхом підбору ізотонічного розчину, в якому не відбувається ні втрат, ні поглинання води клітинами. Однак метод оснований на вимірюванні не концентрації розчинів, а розмірів шматочків, вирізаних із досліджуваних органів рослин і занурених в розчини відомої концентрації. При зануренні шматочка тканини в розчин, осмотичний тиск (P) якого більший сисної сили (S) клітин, розчин віднімає воду від клітин і їх розміри зменшуються. Якщо сисна сила (S) клітин більша осмотичного тиску (P) розчину, то клітини поглинають воду і збільшуються в об'ємі. При рівновазі сисної сили клітин і осмотичного тиску розчину розміри клітин не змінюються.

Спрощений метод Уршпрунга придатний лише для великих паренхіматозних органів зі слабо розвинутими механічними тканинами (бульби, коренеплоди). Переваги даного методу – простота і можливість безпосередньо спостерігати за зміною тургору залежно від ступеню насичення клітин водою.

Хід роботи. Готують по 10 мл розчинів NaCl або KNO₃, NaNO₃, або сахарози (моль/л) 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7, змішуючи в скляночках необхідну кількість ІМ розчину і води. В одну скляночку наливають чисту

воду. Вирізають із бульби картоплі чи коренеплода моркви великим ножом пластинку завтовшки 3-4 мм, поклавши її на дерев'яну дощечку, вирізають прямокутник шириною 20-30 мм і довжиною 30-35 мм (чим більша довжина майбутніх смужок, тим краще). Розрізають прямокутник повздовж на 8 однакових смужок шириною 2-3 мм, вимірявши їх довжину з точністю до 0,5 мм, занурюють одну у воду, а решту – в приготівлені розчини, слідкуючи, щоб занурення було повним. Готують і вимірюють смужки швидко, не допускаючи підсихання тканин.

Через 20-30 хвилин пінцетом дістають смужки із розчинів, просушують фільтрувальним папером і повторно вимірюють їх довжину. Результати записують за формою.

Концентрація плазмолітика, моль/л	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1
Довжина смужки перед зануренням у розчин							
Довжина смужки після занурення у розчин							
Різниця у вимірюванні, мм							

Необхідно пояснити причини змін довжини смужок після перебування в розчинах різної концентрації, розрахувати величину осмотичної сили клітин. Зробити відповідні висновки.

Робота 17. **Визначення вмісту води і сухої речовини у рослинному матеріалі.**

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

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.

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 води 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 ексікатор на 30 хвилин, після чого його зважують. Для контролю бюкс з ексікатора 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 ексікатор відкритими для охолодження. Через 20-30 хвилин бюкси закривають і зважують, знову ставлять у сушильну шафу на 2 години. Висушену наважку знову охолоджують в ексікаторі і зважують. Операцію повторюють доти, доки різниця між двома останніми зважуваннями не дорівнюватиме 0,0002-0,0003 г.

Результати записують за такою схемою:

Варіанти дослідів	№ бюкса	Маса бюкса, г	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, %	Вода %
				в		б	А	

Відсотки абсолютно сухої речовини обчислюють за такою формулою:

$$A = \frac{b}{v} \times 100: \text{ в,}$$

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, визначають відсоток води (100-A) і роблять висновок про вміст сухої речовини і води в рослинному матеріалі.

Робота 18. Залежність набухання насіння від типу запасних речовин.

Матеріали і 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.).

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

Граничне набубнявіння 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 зрости у два рази. Значно слабше бубнявіє крохмалисте насіння злаків – кукурудзи, пшениці, жита.

Усмоктування 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.

Спостереження за процесом набубнявіння насіння, яке різниться між собою вмістом основних запасних речовин: білка, крохмалю і жирів, можна провести експериментально.

Хід роботи. Зважити по 5 г насіння пшениці, квасолі та соняшнику, загорнути у марлеві серветки, покласти в склянки і залити водопровідною водою. Не раніше як через 3 год. серветки вийняти із скляночок, насіння швидко обсушити фільтрувальним папером і повторно зважити. Вирахувати збільшення маси насіння і кількість увібраної води у відсотках. 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 запасних речовин та міру їх гідрофільності у насінні різних видів рослин.

Робота 19. Порівняння транспірації верхнього і нижнього боку листка за допомогою хлоркобальтового паперу (за Шталем).

Матеріали і 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 рослини.

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 листковою поверхнею. За часом, який необхідний для переходу забарвлення хлоркобальтового 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 продихів протягом дня, а також за інтенсивністю транспірації з листків різних ярусів.

Хід роботи. В сушильній шафі просушують клаптики хлоркобальтового паперу до появи яскраво-голубого кольору і негайно прикладають до верхнього і нижнього боків листків. Хлоркобальтовий папірець необхідно тримати пінцетом, не доторкуючись до нього 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 мікроскопу підраховують кількість подихів і виводять середнє.

Результати досліду записують за таким зразком:

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

На підставі отриманих результатів роблять висновки.

Робота 20. **Визначення інтенсивності транспірації за різних зовнішніх умов ваговим методом.**

Матеріали і обладнання: 1) технічні терези; 2) колби; 3) кристалізатор з водою; 4) ножиці; 5) щільний папір; 6) лінійка; 7) вата; 8) рослинна олія; 9) листки або гілочки рослин; 10) скляний ковпак.

Інтенсивність транспірації – кількість води, яка випаровується з одиниці листкової поверхні за одиницю часу. Величина інтенсивності транспірації залежить від напруження зовнішніх факторів, часу доби і коливається в межах $15-250 \text{ г/м}^2 \times \text{год}$.

Одним із методів визначення інтенсивності транспірації є ваговий, який ґрунтується на визначенні випаровування води за зменшенням маси цілої рослини, пагона або окремого листка.

Хід роботи. Три гілочки з однієї рослини або три великих листки з довгими черешками зрізають в кристалізаторі під водою і ставлять в колби з водою, зверху на воду крапають краплину олії, щоб виключити

випаровування води з відкритої поверхні колби. Якщо колби зовні будуть облиті водою, їх старанно витирають і після цього зважують, відмітивши час зважування. Одну колбу ставлять на стіл або підвіконня в лабораторії на світло, другу – в темне місце (в шафу або стіл), а третю – під скляний ковпак, який перед дослідом з середини протирають мокрою ватою і залишають її під ковпаком з метою зволоження повітря.

Через годину колби знову зважують. Зменшення мас колб будуть відповідати кількості випаруваної листком води за час дослід (час між двома зважуваннями).

На основі отриманих результатів розраховують інтенсивність транспірації. Для цього необхідно знати площу дослідних листків, яку визначають методом зважування. Дослідні листки перед постановкою досліді накладають на щільний папір, старанно обводять олівцем, вирізають і зважують їх контури на терезах. Одночасно вирізають з цього самого паперу квадрат 100 см^2 і також зважують. За пропорцією знаходять площу дослідних листків:

$$\frac{a}{b} = \frac{c}{S},$$

де a – маса квадрату паперу в 100 см^2 г;

b – маса контуру листка з паперу, г;

c – площа квадрату паперу (100 см^2);

S – площа листка, см^2 .

Знайшовши площу листової поверхні, обчислюють інтенсивність транспірації за такою формулою:

$$I_T = \frac{\pi \times 60 \times 10000}{S \times t} \quad \text{г/м}^2 \times \text{год.},$$

де I_T – інтенсивність транспірації, г/м^2 за годину;

π – кількість води, яка випарувалася за час досліді, г;

S – площа листка, см^2 ;

t – тривалість досліду, хв.;

60 – коефіцієнт перерахунку хвилин в години;

10000 – коефіцієнт перерахунку площі, см²/ м².

Результати досліджень записують в робочий зошит за схемою:

Умови досліду	Маса колби з листочком, г		Змен- шення маси колби з лист- ком, г	Площа листка, см ²	Трива- лість досліду, хв	Інтен- сивність транс- пірації, г/ м ² за год.
	на початку досліду	в кінці досліду				

Порівнявши отримані дані величини інтенсивності транспірації рослин за різних умов, роблять відповідні висновки.

Робота 21. Визначення водного дефіциту рослин.

Матеріали і обладнання: 1) сушильна шафа; 2) аналітичні або торсійні терези; 3) коркове свердло діаметром 16-18 мм; 4) бюкси; 5) ексікатор; 6) щипці; 7) гумова пластинка; 8) фільтрувальний папір; 9) чашки Петрі; 10) різноманітні рослини.

При помірній транспірації і достатньому надходженні води в рослину створюється сприятливий водний баланс.

Нестача вологи в ґрунті порушує водообмін в рослині, сприяє зниженню обводнення тканин, викликає зміни біоколоїдів клітин, що призводить до пошкодження тонких структур протопласту, істотні зміни в стані і діяльності ферментативних систем, внаслідок чого відбувається порушення обміну речовин в рослинах.

Зменшення вмісту води в рослині викликає різке зниження інтенсивності фотосинтезу, підвищення інтенсивності дихання, порушення процесів окислювального фосфорилування, внаслідок чого значно знижується енергетична ефективність дихання, порушуються інші фізіологічні процеси.

Показником напруженості водного режиму є водний дефіцит.

Під водним дефіцитом розуміють недостачу води до повного насичення клітин, яка виражається у відсотках від загального її вмісту при повному насиченні тканин. Цей показник добре корелює з водозабезпеченням рослини і може бути використаний для характеристики її водного режиму.

Хід роботи. Вирізають корковим свердлом 15-20 дисків із дослідних листків, кладуть їх у абсолютно сухі і попередньо зважені бюкси і закривають. Після відбору проби зважують на аналітичних терезах. Потім диски з листків кладуть на поверхню води в закриті чашки Петрі і залишають для насичування тканин водою на 90 хвилин, після чого їх виймають, просушують фільтрувальним папером. Потім диски знову поміщають у бюкси і зважують.

За отриманими даними розраховують водний дефіцит листків за формулою:

$$X = \frac{100 \times (b-a)}{b}$$

де X – водний дефіцит листків, в % до маси насиченого водою листка;

a – маса проби (дисків) до насичування її водою, г;

b – маса проби після насичування її водою, г.

Роблять висновки про водний дефіцит листків різних рослин.

Робота 22. Визначення стану продихів методом інфільтрації та за допомогою відбитків.

Матеріали і обладнання: 1) різні кімнатні і польові рослини; 2) петролейний ефір (або бензол), ксилол і етиловий спирт у пляшечках, закритих пробками із вставленими петлями з тонкого дроту; 3) колодій, розведений сумішшю спирту з ефіром (1:7); 4) скляна паличка; 5) пінцет; 6) мікроскоп; 7) предметне скло; 8) окулярний мікрометр.

Випаровування рослиною води здійснюється через спеціальні отвори, що називаються продихами. Основним фактором, який регулює розмір продихового отвору, є насиченість продихових клітин водою. У свою чергу, продихові клітини наповнюються водою лише тоді, коли містять осмотично активні, тургорогенні речовини. До них належать моно- і дисахариди. З іншого боку, крохмаль – осмотично недіяльна речовина. При його нагромадженні продихи закриті. В основі продихових рухів є перетворення цукрів у крохмаль і навпаки.

Перетворення крохмалю до цукрів відбувається на світлі з участю крохмальної фосфорилази за рН 7, тому у день у більшості рослин продихи відкриті, уночі – закриті. Вважають, що у темряві нагромаджуються органічні кислоти і рН зменшується. За таких умов спрямованість дії ферментів змінюється, цукри перетворюються в крохмаль і продихи закриваються.

Ступінь відкриття продихів є важливим фізіологічним показником при визначенні забезпечення рослин водою, тому прості і надійні методи спостереження за станом продихів мають практичне значення. Метод Моліша ґрунтується на тому, що різні рідини в однаковій за діаметром щілині проникають із неоднаковою швидкістю. По світлій плямі на листку можна визначити, яка саме рідина проникла через отвір і ступінь відкривання його продихів. Інший спосіб (метод відбитків) полягає у тому,

що розчин колодію, який швидко засихає на поверхні листка, закарбовує усі деталі його зовнішньої будови, у тому числі і продихи, діаметр яких можна легко виміряти.

Хід роботи. *Метод інфільтрації.* На нижній бік листка наносять послідовно маленькі краплі спирту, петролейного ефіру і ксилолу. Листок тримають горизонтально до повного зникнення крапель, які можуть або випаруватися, або проникнути всередину листка. Потім листок розглядають на світло. Якщо продихи широко відкриті, то спирт швидко, проникає через продихові щілини, а на листку з'являються прозорі плями. Аналогічно плями повинні з'явитися від двох вищих реактивів. Якщо продихи відкриті слабше, то спирт не проникає у міжклітинники листка. Залишаючись на поверхні, він випаровується. У даному випадку інфільтраційна пляма з'явиться від петролейного ефіру, який проникає через більш вузькі щілини. Звичайно, пляма утвориться і від ксилолу. Якщо ж продихи ледь відкриті, то пляма буде тільки від ксилолу, який проникає через найвужчі щілини. Результати остережень записують у таблицю, проникання рідини позначають знаком плюс, відсутність проникання – знаком мінус:

Об'єкт досліджень	Умови досліду	Спирт	Ефір	Ксилол	Стан продихів
-------------------	---------------	-------	------	--------	---------------

Метод відбитків. Розчин колодію або розчинену в ацетоні кіноплівку наносять тонким шаром (за допомогою скляної палички) на нижній бік листка. Після висихання рідини на листку утворюється тонка плівка, яку знімають пінцетом, розміщують її на предметному склі і розглядають під мікроскопом без накривного скла. На плівці добре видно відбитки продихів. Величину продихових щілин при необхідності можна виміряти за допомогою окулярного мікрометра. Продихи замальовують.

Робота 23. Визначення розкриття продихів на фіксованому епідермісі (за Ллойдом).

Матеріали і обладнання: 1) мікроскоп; 2) окуляр-мікрометр; 3) предметні і накривні скельця; 4) пінцет; 5) препарувальна голка; 6) фіксований епідерміс ірису і кукурудзи.

Метод полягає в швидкому зневодненні і фіксуванні епідермісу листків в абсолютному спирті і послідуєчому його дослідженні під мікроскопом.

Хід роботи. З листка рослини дуже швидко здирають шматочок епідермісу, який негайно опускають в склянку з абсолютним спиртом. Вся операція не повинна займати більше 2-3 сек. Абсолютний спирт швидко зафіксує зідраний епідерміс і захищає його від подальшої деформації.

Потім шматочки зафіксованого епідермісу розглядають під мікроскопом і визначають стан продихів (відкриті, широко відкриті, закриті). При більш точному дослідженні проводять вимірювання ширини продихових отворів за допомогою окуляр-мікрометра. Промірів роблять не менше 20.

Результати досліду записують, роблять висновки про стан продихового апарату рослин.

КОНТРОЛЬНІ ЗАПИТАННЯ

з розділу:

" ВОДНИЙ ОБМІН РОСЛИН "

1. Структура води і її фізичні властивості.
2. Фізіологічна роль і форма води в рослинах.
3. Осмотичні явища клітини, їх фізіологічні значення.
4. Двигуни водного потоку в рослині.
5. 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. Висхідна і низхідна течії води і розчинених речовин в рослині.
8. Критичні періоди у водопотребі рослин. Фізіологічні основи зрошення.
9. Значення води для формування врожаю с.-г. рослин.
10. Фізіологічні показники, що використовуються для визначення необхідності поливу.

РОЗДІЛ IV. МІНЕРАЛЬНЕ ЖИВЛЕННЯ РОСЛИН

Робота 24. Оперативна діагностика потреби рослин в основних елементах мінерального живлення.

Матеріали і обладнання: 1) польові культури рослини чи окремі органи; 2) 10%-і розчини HCl і NH₃; 3) розчин Na₂PbCu(NO₂)₆; 4) 1%-й розчин H₂SO₄; 5) (NH₄)₂MoO₄ у 1%-й HNO₃; 6) Sr(NO₃)₂; 7) K₄[Fe(CN)₆]; 8) дифеніламіну в концентрованій H₂SO₄; 9) 5%-й розчин (NH₄)₂MoO₄; 10) Na₂HPO₄ · 12H₂O (у кристалах); 11) MgSO₄ (у кристалах); 12) насичений розчин NH₄Cl; 13) 2 н. розчин NH₄OH; 14) розчин бензидину; 15) насичений водний розчин CH₃COONa; 16) 2 н. розчин HCl; 17) розчин дипікриламінату магнію; 18) етиловий спирт; 19) дистильована вода; 20) мікроскоп; 21) предметні стекла (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.

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 в тканинах рослин. Зокрема, при нестачі азоту, фосфору, калію, магнію, насамперед терплять 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 сокові; при цьому функціональна діяльність росли 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.

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 елементу чи іону вказує специфічна форма утворених кристалів, які розглядають під мікроскопом. При користуванні цим методом 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, а 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 – $\text{Na}_2\text{PbCu}(\text{NO}_2)_6$. Краплю водної витяжки наносять на предметне скло і висушують. На висушений залишок наносять краплю реактиву. Через 2-3 хв. препарат розглядають під мікроскопом. При наявності калію в полі зору можна бачити темно-коричневі та чорні кубічної форми кристали свинцево-мідного азотнокислого калію – $\text{K}_2\text{PbCu}(\text{NO}_2)_6$. Реакція дозволяє відкрити $0,15\gamma \text{ K}^+$.

Для виявлення кальцію на краплю солянокислої витяжки діють 1%-м розчином H_2SO_4 і злегка підігрівають на спиртівці до появи облямівки по краях краплі. У результаті реакції випадають голчасті кристали гіпсу – $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Реакція дозволяє відкрити $0,4\gamma \text{ Ca}^{++}$.

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 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ і розглядають утворені кристалики MgNH_4PO_4 під мікроскопом. Реакція дає змогу виявляти мінімум $0,012\gamma \text{Mg}^{++}$.

Для виявлення фосфору краплю 1%-го розчину молібденовокислого амонію з'єднують з краплею солянокислого розчину золи. Після підігрівання випадає зеленувато-жовтий осад фосфорномолібденовокислого амонію – $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{MoO}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. Фосфор можна також виявити попередньою реакцією (на магній), але на останньому етапі замість $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ у краплю уводять кристалик MgSO_4 . Утворюються такі самі кристали фосфорноаміачномагнезіальної солі – $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. Реакція дозволяє встановити $0,01\gamma \text{PO}_4^{---}$.

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 К, Са, Mg і Р наведено на рисунку 7.

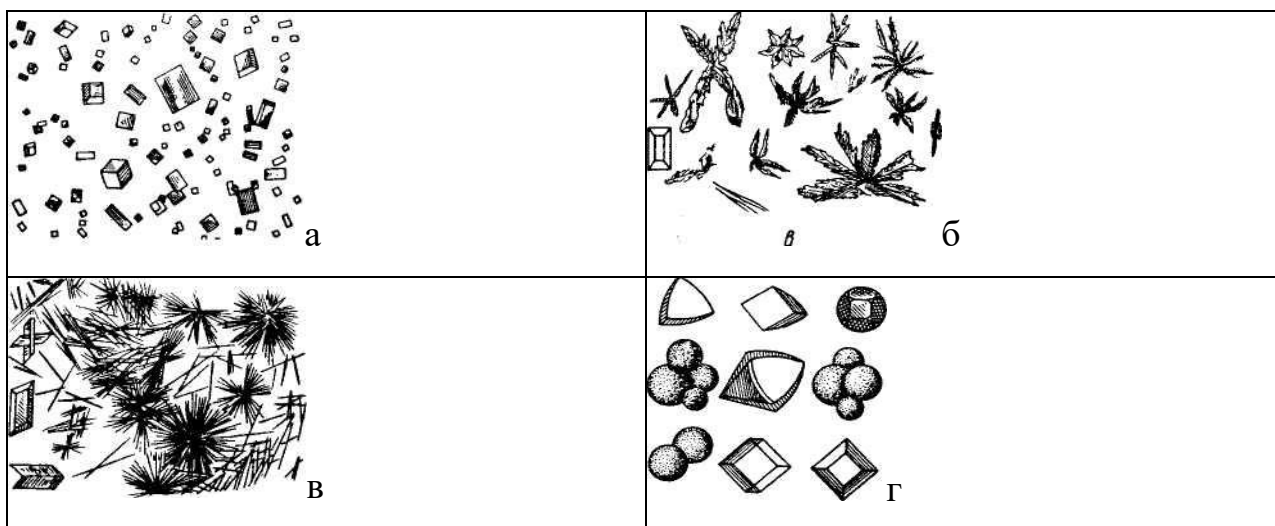


Рис. 7. Кристали, утворені за участю:

а– калію ($\text{K}_2\text{PbCu}(\text{MO}_2)_6$); б – кальцію ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$); в – магнію ($\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$); г - фосфору [$(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{MoO}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$]

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 лазури" $Fe_4[Fe(CN)_6]_3$ забарвлює розчин у темно-синій колір.

Для визначення нітратів на свіжій зріз дослідного органа чи на краплю вичавленого соку на фільтрувальному папері наносять краплю розчину сірчанокислого дифеніламіну. Залежно від кількості нітратів колір змінюється від стійкого темно-синього (надлишок нітратів) через синій, світло-синій і світло-голубий до легкого порожевіння 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 молібденовокислого амонію, бензидину і оцтовокислого 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 дипікриламінату магнію, а потім – 2 н. розчин соляної кислоти. Забарвлення змінюється від червоно-сурикового (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 елемента не потребує, 4 – слабо потребує, 3 – середня потреба, 2 – потребує, 1 – дуже потребує, 0 – дуже сильно потребує.

Робота 25. Антогонізм іонів на прикладі росту коренів пшениці.

Матеріали і обладнання: 1) насіння пшениці чи ячменю, що наклюнулось; 2) розчин хлористого калію 9 г/л і хлористого кальцію 6,7 г/л (обидва розчини мають бути приготовлені із хімічно кислих солей на дистильованій воді); 3) дистильована вода; 4) фарфорова чашка; 5) чашка Петрі (3 шт.); 6) піпетки градуйовані на 10 мл (2 шт.); 7) пінцет; 8) фільтрувальний папір; 9) ножиці; 10) олівець по склу; 11) лінійка.

В розчині якої – небудь окремо взятої солі ріст рослин затримується більше, ніж в розчині суміші солей. Це явище спостерігається з тієї причини, що в розчині декількох солей відбувається антагонізм іонів, внаслідок чого отруйна дія одних катіонів і аніонів усувається присутністю інших. Такі розчини називаються фізіологічно врівноваженими. Цю обставину слід враховувати при вирощуванні рослин у водних і піщаних культурах, а також при внесенні добрив у ґрунт для створення в зоні розміщення кореневої системи врівноваженого розчину поживних солей. Досліди з вивчення антагонізму іонів необхідно проводити з дуже чистими реактивами і посудом, оскільки навіть невеликі домішки інших іонів призведуть до небажаних наслідків.

Хід роботи. У фарфорову чашку відбирають 30 однакових насінин, що наклюнулись, і 3-4 рази промивають їх дистильованою водою, кладуть на дно вирізаний за розмірами чашки Петрі фільтрувальний папір і

розкладають пінцетом по 10 насінин, чашки нумерують олівцем по склу. Наливають в першу чашку 15 мл розчину KCl, в другу – 15 мл розчину CaCl₂, в третю – 13 мл розчину KCl і 2 мл розчину CaCl₂. Закривають чашки кришками і залишають при кімнатній температурі. Через кожні два дні чашки провітрюють, відкриваючи кришки на декілька секунд. Через тиждень вимірюють довжину надземної частини і корінців (у кожного екземпляра вимірюють один найдовший корінь), вираховують середні величини і заносять їх у таблицю.

Варіанти досліду	Середня довжина, см	
	надземної частини	коренів
KCl		
CaCl ₂		
KCl + CaCl ₂		

Робота 26. Вплив виключення окремих елементів із поживного середовища на ріст рослин.

Матеріали і обладнання: 1) скляна посудина з кришкою (банка); 2) чорний папір для чохла; 3) проростки рослин; 4) вата; 5) клей; 6) піпетки на 5 і 10 мл; 7) лінійка чи міліметровий папір; 8) солі: Ca(NO₃)₂, KH₂PO₄, MgSO₄ × 7H₂O, KCl, CaSO₄ × 2H₂O, NaH₂PO₄ × H₂O, NaCl; слабкі розчини FeCl₃ і інші мікроелементів.

Виключення із складу поживного середовища одного чи декількох макро- і мікроелементів призводить до порушення обміну речовин в рослинах, гальмування ростових процесів і врешті решт, до їх загибелі. Це пов'язано з тим, що мінеральні елементи входять до складу речовин, які

виконують притаманні їм функції лише в поєднанні з даними елементами. Крім того, деякі елементи (К, Са, В і ін.) виконують і регуляторні функції.

Хід роботи. 1. *Підготовча робота.* Монтування посудин, вирощування розсади для водних культур, розрахунок і виготовлення розчину для поживних сумішей.

2. *Закладка досліду.* Складання поживних сумішей для різних варіантів досліду, закріплення рослин в кришці посудини, складання бланків для ведення записів у щоденнику.

3. *Спостереження і догляд за рослинами.* На протязі всього періоду досліду вимірюють приріст надземних органів (стебла і листки), визначають кількість поглиненої води, проводять заміну розчинів і їх продування, підв'язують рослини, фіксують відхилення у їх рості і розвитку.

4. *Ліквідація досліду.* Вимірюють надземну частину і корені рослин, визначають сиру масу, складають діаграми за даними спостережень за весь період вегетації. Дослід треба проводити впродовж 30 днів і більше.

Закладання досліду. Вимірюють об'єм посудини, що призначається для вирощування рослин. На посудині роблять відмітку положення рівня, до якого наливають поживний розчин.

Поживні розчини (за Кнопом):

1. Повний розчин (в г на 1л);

$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ – 1,0; KH_2PO_4 – 0,25; KCl – 0,125; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,25
 FeCl_3 – 1-2 краплі розчину; 5мл розчину мікроелементів.

2. Суміш з виключенням калію:

$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ -1,0; $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$ – 0,25; NaCl – 0,09; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,25; FeCl_3 – 1-2 краплі розчину; 5мл розчину мікроелементів.

3. Суміш з виключенням фосфору:

$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ -1,0; KCl – 0,125; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,25; FeCl_3 – 1-2 краплі розчину; 5мл розчину мікроелементів.

4. Суміш з виключенням азоту:

$\text{Ca SO}_4 \times 2 \text{H}_2\text{O}$ – 1,03; KH_2PO_4 – 0,25; KCl – 0,125; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,25; FeCl_3 – 1-2 краплі розчину; 5мл розчину мікроелементів.

5. Суміш з виключенням кальцію:

NaNO_3 – 1,03; KH_2PO_4 – 0,25; KCl – 0,145; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,25; FeCl_3 – 1-2 краплі розчину; 5мл розчину мікроелементів.

В розчині без калію калійні солі замінюються на натрієві, в розчині без фосфору замість кислого фосфорнокислого калію береться хлористий калій, в суміші без азоту азотнокислий кальцій замінюється сірчаноокислим кальцієм, в суміші без кальцію замість азотнокислого кальцію береться азотнокислий натрій.

Здійснюють відповідні розрахунки кількості солі, що вводиться в розчин замість тієї, що виключається, враховуючи еквівалентність елементу, що повинен залишитися.

Приклад розрахунку. Беремо суміш з виключенням азоту. До складу поживної суміші Кнопа входить азот у вигляді солі $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$. При виключенні його із поживного середовища пов'язаний з аніоном NO_3 катіон Ca^{+2} повинен бути збережений в незмінних кількостях; $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ замінюється сіллю $\text{Ca SO}_4 \times 2 \text{H}_2\text{O}$. Для цього визначають кількість кальцію зв'язаного з аніоном NO_3 в солі $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$.

1. Визначають кількість кальцію зв'язаного з аніоном NO_3 в $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$. Грам-молекула $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 164 г містить 40,04 г Ca, а в 1г $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ кальцію знаходиться невідома кількість:

$$164\text{г} - 40,04$$

$$1\text{г} - X,$$

звідси
$$X = \frac{40,04 \times 1}{164} = 0,24\text{г}$$

2. Визначають, яку кількість $\text{Ca SO}_4 \times 2 \text{H}_2\text{O}$ необхідно внести в поживну суміш, щоб зберегти кількість кальцію, еквівалентну його вмісту в 1г $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ (0,24 г). Грам-молекула $\text{Ca SO}_4 \times 2 \text{H}_2\text{O}$ 172,16 г містить Ca – 40,04 г , а 0,24 знаходиться в X $\text{Ca SO}_4 \times 2 \text{H}_2\text{O}$:

$$172,16 - 40,04$$

$$X - 0,24,$$

звідси
$$X = \frac{172,16 \times 0,24}{40,04} = 1,03\text{г}$$

Отже, замість 1 г $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ виключеного із складу поживного середовища, в розчин вводиться еквівалентна кількість (за вмістом кальцію) $\text{Ca SO}_4 \times 2 \text{H}_2\text{O}$, що дорівнює 1,03 г.

Аналогічні розрахунки здійснюють при виключенні із складу поживної суміші того чи іншого катіона чи аніона.

Висаджування рослин у посудини. Із наявної розсади відбирають по можливості однакові рослини. При висаджуванні в отвір кришки рослини її обережно вставляють знизу листочками вверх. У кришці закріплюється нижня частина рослини, а коренева система має знаходитись у розчині. Рослину закріплюють кусочками вати. Розчин повинен бути від краю посудини на відстані 1,5- 2 см .

Закривають корені від світла і перегріву чохлами із непрозорого паперу. Закріплюють етикетку, на якій зазначають номер групи, прізвище студента, варіант досліду, дату його закладання.

Спостереження за рослинами. Спостереження здійснюють в певні терміни, інакше будуть одержані не порівняльні дані. Помічені відхилення від нормального росту і розвитку рослин відмічається у відповідній графі (наприклад, опадання листків, дуже раннє чи пізнє, формування генеративних органів, тощо).

Необхідно відмітити початок бутонізації, цвітіння, колосіння, плодоношення і ін. Виміри проводять лінійкою. Кількість поглиненої води визначається кількістю мілілітрів, яка доливається до зазначеного поміткою рівня. Заміна розчинів здійснюється через 6-10 діб, залежно від об'єму банки, ступеню розвитку кореневої системи і т.д. Продування розчинів проводять щоденно протягом 3-5 хв гумовою грушею.

Ліквідація досліду. Перш за все, проводять виміри, зазначені в таблиці. При визначенні маси всієї рослини коренева система ретельно просушується фільтрувальним папером. Вимірюють об'єм кореневої системи шляхом занурення її у мірний циліндр з водою. В графі "примітки" описують загальний стан рослини.

На основі одержаних даних будують графіки, діаграми. Результати заносять в таблиці і роблять відповідні висновки щодо впливу виключення окремих мінеральних елементів на різні рослини.

Склад поживної суміші	Висота надземної частини, см	Довжина кореневої системи, см	Маса рослин, г	Маса надземної частини, г	Маса кореневої системи, г	Кількість листків	Визначення відношення маси надземної частини до коренів	Сумарний об'єм випаруваної води, мл	Примітки

Робота 27. **Визначення загальної адсорбуючої і робочої поверхні коренів рослин.**

Матеріали і обладнання: 1) рослини з коренями; 2) 0,0002 н розчин метиленового синього (64 мг в 1 л дистильованої води); 3) дистильована вода; 4) серветка; 5) бюретка з лійкою; 6) склянки (3 шт.); 7) чисті, сухі пробірки (4 шт.); 8) штатив; 9) піпетка градуйована на 10 мл; 10) піпетка мірна на 1 мл; 11) ФЕК; 12) кристалізатор; 13) фільтрувальний папір; 14) олівець по склу.

Спосіб визначення поверхні коренів, запропонований Д. А. Сабіним і І. І. Колосовим, ґрунтується на уявленнях про адсорбційний характер початкового стану поглинання поживних речовин коренями рослин.

Рослинні клітини мають так званий вільний водний простір (міжфібрилярні і міжміцелярні пори в стінках), доступний для вільної дифузії розчинених речовин. При зануренні коренів в будь-який розчин відбувається його дифузія по вільному водному простору периферійних клітин, так і по стінках пор. Якщо припустити, що при цьому поверхня рівномірно покривається мономолекулярним шаром адсорбованої речовини, то можна визначити площу адсорбуючої поверхні.

За адсорбовану речовину служить метиленова синька, поглинання якої можна визначити за зміною її концентрації, при цьому відомо, що 1 мг метиленової синьки покриває $1,1\text{ м}^2$ поверхні адсорбента.

При зануренні коренів у розчин метиленової синьки вона через 1,5-2 хв з'являється всередині першого шару клітин. І. І. Колосов встановив, що при дворазовому півторахвилинному зануренні коренів в 0,0002Н розчин метиленової синьки відбувається адсорбційне насичення діяльної і недіяльної поверхні кореневої системи. Діяльна або робоча частина кореневої системи поглинає поживні речовини із ґрунту, недіяльна частина вкрита корковою тканиною і здатна лише адсорбувати розчинні речовини. Після досягнення адсорбційного насичення клітини діяльної частини

коренів поглинають попередньо адсорбовані речовини, звільняючи місце для подальшої адсорбції.

Отже загальну адсорбційну поверхню коренів можна визначити за зміною концентрації метиленової синьки при перших двох півторахвилинних зануреннях, а робочу поверхню - за зміною кількості синьки в розчині при третьому зануренні.

Хід роботи. Наливають із бюретки у три пронумеровані склянки однакову кількість (10 мл) 0,0002N розчину метиленової синьки, об'єми налитого розчину записують у таблицю.

Корені, вийняті із посудини з водою обережно просушують на фільтрувальному папері і послідовно занурюють у три склянки з метиленовою синькою на 1,5 хв. в кожную із них. При цьому розчин перемішують, обережно повертаючи корені.

За допомогою фотоелектроколориметра визначають концентрацію метиленової синьки в склянках після перебування в них коренів, використовуючи як стандартний вихідний розчин синьки, розведений у 10 разів (1 частина розчину + 9 частин дистильованої води), таким же чином розводять і дослідні розчини. Готувати розведені розчини слід у сухих, відповідним чином пронумерованих пробірках.

Визначення концентрації розчинів із дослідних склянок здійснюють з допомогою ФЕК'а.

При використанні ФЕК'а необхідно побудувати на міліметровому папері калібрувальний графік. З цією метою в сухих колбах готують серію розведень (не менше чотирьох) стандартного розчину і колориметрують з жовтим світлофільтром. На міліметровому папері накреслюють систему координат, відкладаючи на осі абсцис концентрацію розчинів, - на осі ординат - показання колориметра (оптичну густину). Якщо розчин приготовлений точно, то всі точки будуть на одній прямій (або дуже

близько до неї), яку і накреслюють.

Для визначення концентрації досліджуваного розчину на осі ординат знаходять відповідну точку, проводять від неї горизонтальну лінію до пересічення з графіком і опускають перпендикуляр на вісь абсцис, результати визначення концентрації метиленої синьки записують в таблицю.

Номер склянки	Оптична густина				Концентрація метиленої синьки, мг/мл	
	1	2	3	середнє	в стандартному розчині	в дослідному розчині

Розрахунки:

- 1) кількості метиленої синьки в першій склянці, що залишилось після занурення в її розчин кореня.

$$M_1 = \frac{D_1 \times M}{D} \text{ (мг/мл)}$$

M - кількості метиленої синьки (мг/мл) в стандартному розчині;

M₁- кількості метиленої синьки (мг/мл) в першій склянці;

D - оптична густина стандартного розчину;

D₁ - оптична густина дослідного розчину в першій склянці.

Аналогічно роблять розрахунки для другої і третьої склянок.

- 2) кількості поглинутої синьки коренем (мг/мл) для трьох скляночок за різницею між кількістю синьки (0,064 мг/мл) в стандартному розчині і її кількістю, що залишилась після занурення кореня;

- 3) загальної поверхні кореня (м²), помноживши кількість поглинутої синьки коренем в першій і другій склянках на об'єм розчину і 1,1;

- 4) робочої адсорбуючої поверхні (м²), помноживши кількість поглинутої синьки в третій склянці на об'єм розчину і 1,1.

Об'єм розчину, мл	Кількість метиленової			Поглинання метиленової синьки, мг				Поверх.	
	1	2	3	з першої склянки	з другої склянки	з першої і другої склянок разом	із третьої склянки	загальна	робоча
	склянках								
До занурення									

Провівши розрахунки і заповнивши таблицю, роблять відповідні висновки.

Робота 28. Виявлення нітратів у рослинах.

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

Азот, що поглинається коренями із ґрунту в нітратній формі відновлюється рослиною до аміаку, який потім зв'язується кетокислотами (пірвіноградною, щавелевооцтовою, α - кетоглутаровою) з утворенням в процесі прямого амінування відповідної амінокислоти (аланін, аспарагінової, глютамінової 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 аніліновий барвник синього кольору. Виходячи з інтенсивності синього забарвлення, можна орієнтовно судити про кількість нітратів у досліджуваних об'єктах.

Хід роботи. В білу фарфорову чашку вміщують шматочки черешка, листової пластинки, коренів, плодів і 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 і в якому органі їх найвищий вміст.

Робота 29. **Колориметричне визначення вмісту фосфору у рослинах.**

Матеріали і обладнання: 1) 2%-ний розчин хлористого калію; 2) молібденово-кислий амоній на концентрованій сірчаній кислоті; 3) двохлористе чи металічне олово; 4) KN_3PO_4 ; 5) мірні колби на 50 мл; 6) фарфорова чашка; 7) ексікатор з ефіром; 8) ФЕК-56м; 9) піпетки.

Метод ґрунтується на взаємодії фосфорної кислоти та її солей з молібденовокислим амонієм в присутності відновника (олова), в результаті чого утворюються сполуки голубого забарвлення, інтенсивність якого пропорційна вмісту фосфору в рослинах.

Хід роботи. Наважку свіжих листків 200-250 мг кладуть у фарфорову чашку і ставлять на 45 хв. в ексікатор, на дно якого налито ефір, пари якого вбивають листки. Потім у чашку приливають 5 мл 2%-ного розчину хлористого калію. Через 2 години в одержаній витяжці визначають вміст фосфору. 1-3 мл (залежно від вмісту фосфору), витяжки вміщують у мірну колбу на 50 мл, до половини об'єму доливають дистильовану воду, 2 мл молібденовокислого амонію, перемішують і вводять 2-3 краплі двохлористого олова (можна 1-2 шматочки металічного олова), перемішують. Вміст колби дистильованою водою доводять до помітки, перемішують і через 7-10 хв. колориметрують на ФЕК'у з червоним світлофільтром № 8. Кількість фосфору в досліджуваному розчині знаходять за калібрувальною кривою.

Для виготовлення стандартного розчину наважку 0,1917г KN_2PO_4

розчиняють в 1 л дистильованої води (в мірній колбі). Цей розчин розводять в 10 разів, щоб в 1 мл стандартного розчину містилось 0,01 мг P_2O_5 . В 10 мірних колбах на 50 мл приливають від 0,5 до 20 мл стандартного розчину в зростаючому порядку, потім у колби додають всі реактиви, які і при аналізі досліджуваних проб, колориметрують на ФЕК з червоним світлофільтром № 8. Виходячи з одержаних показників будують калібрувальну криву. Розрахунок вмісту P_2O_5 проводять за формулою:

$$X = \frac{a \times 100}{n}, \text{ де}$$

X - вміст P_2O_5 в 100 г рослинної маси, мг;

a - вміст P_2O_5 знайдений на калібрувальній кривій, мг;

n - наважка рослинного матеріалу, мг.

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. Механізми 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.
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. Потреба рослин у елементах мінерального живлення в онтогенезі.
18. Діагностика мінерального живлення рослин.
19. Фізіологічні основи застосування добрив.
20. Вирощування рослин на різних субстратах. Гідропоніка.

РОЗДІЛ V. ФОТОСИНТЕЗ

Робота 30. Пігменти зеленого листка.

Матеріали і обладнання: 1) свіжі або сухі листки рослин; 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 товкачиком (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.

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 в хімічну енергію синтезових АТФ та НАДФ. Н₂, а біохімічні реакції, відновлення СО₂ і синтез вуглеводів, відбувається у ламелярному просторі (стромі).

В мембранах тилакоїдів містяться такі пігменти: хлорофіл *a* С₅₅Н₇₂О₅Н₄Мg – зеленого кольору з синюватим відтінком; хлорофіл *b* 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

фітолу $C_{20}H_{39}OH$; каротиноїди є тетратерпеноїдами (8 залишків ізопрену C_5H_8).

Завдання даної роботи – одержання спиртової витяжки із зелених листків і ознайомлення з деякими властивостями пігментів.

Хід роботи. Свіжі чи сухі листки подрібнюють ножицями, відкидають крупні жилки і черешки, вміщують у ступку, додаючи $CaCO_3$ 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.

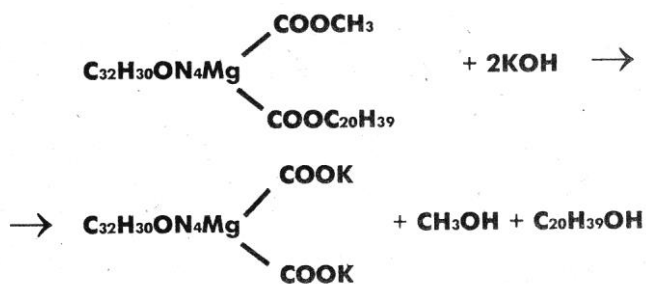
Наливають одержану витяжку по 2-3 мл в чотири пробірки і проводять такі досліді:

а) *розділення пігментів за Краусом.* Додають до спиртової витяжки пігментів дещо більший об'єм бензину і 2-3 краплі води (щоб спирт не змішувався з бензином). Пробірку закривають пальцем, декілька разів інтенсивно струшують і дають відстоятись. Помутніння нижнього шару від надлишку води можна усунути, приливаючи трохи спирту. Відмічають жовте забарвлення нижнього (спиртового) шару і зеленого 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 досліді з наступним.

б) *омилення хлорофілу лугом.* До 2-3 мл спиртової витяжки пігментів добавляють 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

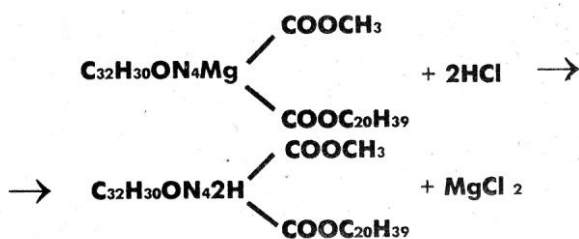
зазначають реакцію омилення хлорофілу, в результаті якої відбувається відщеплення спиртів – метанолу і фітолу, а двохосновна кислота хлорофілін дає сіль:



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 НСl. 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 оцтовокислого цинку чи оцтовокислої міді і доводять розчин до кипіння на

спиртівці. Відмічають зміну забарвлення завдяки відновленню металоорганічних зв'язків. Записують рівняння реакції.

Робота 31. Оптичні властивості пігментів.

Матеріали і обладнання: 1) спиртова витяжки пігментів листка; 2) розчин каротину (бензиновий шар одержаний після омилення хлорофілу) і ксантофілу; 3) спектроскоп.

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 *a* і *b* – 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 вирівняний спектр поглинання.

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

Хід роботи. Для того, щоб розглянути спектр поглинання хлорофілу, спочатку за допомогою спектроскопа розглядають спектр сонячного світла (чи від електричної лампочки). Потім перед щілиною спектроскопу розміщують пробірку з витяжкою пігментів і спостерігають темні смуги

поглинання в червоних і синьо – фіолетових променях спектру. Спектр поглинання хлорофілу замальовують.

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

Для одержання спектра поглинання каротиноїдів беруть їх розчини і розміщують перед щілиною спектроскопу. 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 32. Хроматографічний розподіл пігментів.

Матеріали і обладнання: 1) хроматографічний папір; 2) пігментна витяжка; 3) піпетки на 1 мл; 4) петролейний ефір; 5) ацетон; 6) хроматографічна камера; 7) скріпки; 8) чорний папір; 9) бензин.

Хроматографія – фізико–хімічний метод розподілу рідких і газоподібних сумішей, при якому компоненти суміші виділяються у вигляді окремих смуг чи зон.

Фундатором хроматографічного аналізу є професор М.С. Цвет. В 1904 році він вперше застосував адсорбційну хроматографію для розподілу пігментів листка, яка ґрунтується на різній адсорбованості їх на адсорбенті.

Хід роботи. 1) Одержання витяжки пігментів листка: наважку досліджуваного матеріалу (200 мг) ретельно розтирають у фарфоровій ступці. До розтертого матеріалу додають 2-3 мл спирту чи ацетону і продовжують розтирання, відфільтровують у мірний циліндр на 25 мл. Ступку споліскують декілька разів ацетоном і виливають її вміст у лійку.

2) Підготовка хроматографічного паперу і внесення пігментної витяжки: смугу хроматографічного паперу 25×13 см (руками не чіпати) розміщують на столі, на відстані 5 см знизу від краю проводять простим олівцем риску – старт, відступають від бічних країв на 2,5 см. Вчитись наносити екстракт пігментів слід на фільтрувальному папері, розмістивши його вище зазначеним способом.

Із одержаної витяжки пігментів беруть 1 мл в піпетку з тоненьким носиком і весь об'єм наносять на стартову лінію в кілька разів при періодичному підсушуванні на повітрі.

3) Підготовка розчинників і одержання хроматограми: в чисту посудину для хроматографування наливають розчинник, виготовлений із таких компонентів:

- 1) петролейний ефір – 7,5 мл
- 2) ацетон – 10,5 мл
- 3) бензин – 24,5 мл

Підсушений папір з нанесеною стартовою смужкою пігментів скручують в трубочку, верхні ріжки з'єднують скріпкою, ставлять на дно посудини і щільно закривають кришкою. Щоб уникнути руйнівної дії світла, посудини обгортають чорним папером.

Експозиція розподілу 20 хвилин, температура повітря – не більше 25°C. Слідкують, щоб фронт пігментів не вийшов за межі хроматографічного паперу.

Після повного розподілу (візуально на старті відсутнє зелене забарвлення і пігменти відділились один від одного) папір виймають із посудини, підсушують у витяжній шафі.

Послідовність розподілу пігментів на одномірній висхідній хроматограмі буде такою:

старт

смуга хлорофілу *b*

смуга хлорофілу *a*

смуга ксантофілу

смуга каротину

На основі одержаних результатів роблять відповідні висновки.

Робота 33. Визначення вмісту хлорофілу в листках за допомогою фотоелектрокалориметра.

Матеріали і обладнання: 1) сухі чи свіжі листки рослин; 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.

Для визначення концентрації хлорофілу (як і інших забарвлених розчинів) застосовують фотоелектрокалориметр, принцип дії якого

ґрунтується на урівнюванні інтенсивності двох світлових пучків за допомогою стандартного розчину відомої концентрації. При проходженні світлового пучка крізь досліджуваний розчин його світлова енергія знижується 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 знижується.

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 металевий бюкс, ставлять у сушильну шафу і висушують за температури 105°C до постійної маси. Вологість листка визначають за формулою:

$$x = \frac{(a-b)}{a} \times 100\% \quad , \text{де}$$

a – маса сирої наважки;

b – 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 перекидають 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 обертанні барабану 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 барабану досягають установлення стрілки мікроамперметра на <0>.
8. Поворотом рукоятки в правому світловому потоці кюветку з розчином замінюють з кюветкою з розчинником (водою). Прокручуванням правого барабану досягають установки стрілки мікроамперметра на <0>.
9. Записують показник оптичної густини на шкалі на правому барабані (червоні числа). Після закінчення роботи прилад відключають.
10. За встановленою величиною оптичної густини розраховують концентрацію хлорофілу за формулою:

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

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 34. **Фотосенсибілізуюча дія хлорофілу на реакцію перенесення водню (за Гуревичем).**

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

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.

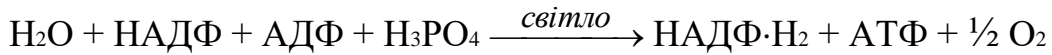
Крім того, при перенесенні електронів частина енергії використовується на утворення АТФ, тобто на фотосинтетичне фотофосфорелювання.

Вважають, що в перенесенні електронів і протонів водню 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 *a*, в другу – хлорофіл *b* та деякі інші пігменти.

Отже, кінцевий результат фотоокислення води – виділення молекулярного кисню і утворення багатих на енергію і відновлювальний

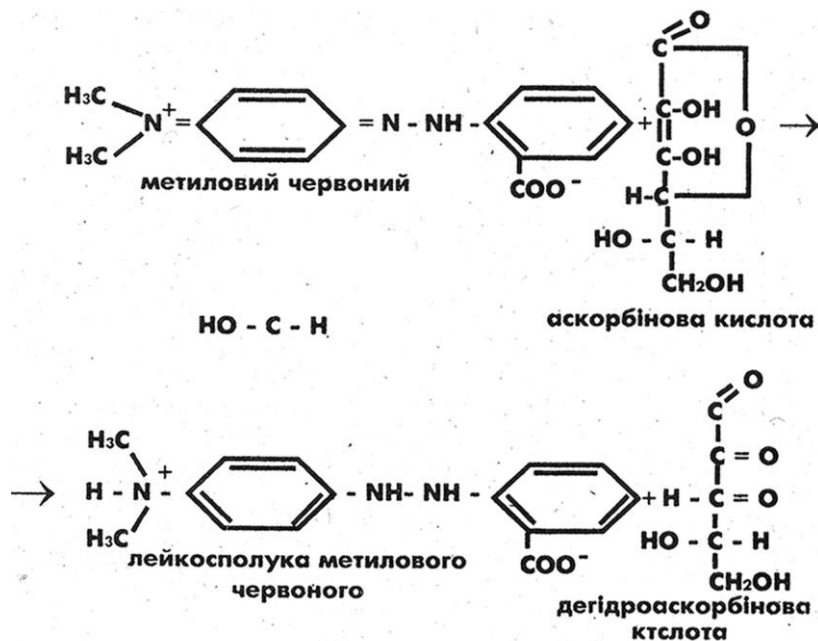
потенціал сполук: АТФ і НАДФ·Н₂, необхідних для наступного відновлення СО₂.

Спрощено фотоліз води і фотофосфорелювання можна уявити таким чином:



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

Хід роботи. Беруть чотири пробірки: в перші три приливають по 5 мл спиртової витяжки хлорофілу, в четверту – 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 3-4 краплі спиртового розчину 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 (300 Вт), 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 фотосенсибілізуючої дії хлорофілу від інтенсивності світла та його спектрального складу, а також концентрації пігмента.

Робота 35. Визначення інтенсивності фотосинтезу за кількістю нагромадженої сухої речовини (метод половинок).

Матеріали і обладнання: 1) рослини з крупними симетричними листками; 2) три бюкси; 3) аналітична вага; 4) сушильна шафа; 5) ексікатор; 6) коркове свердло (D=1 см); 7) шматок картону; 8) чашка з водою; 9) фільтрувальний папір; 10) ножиці.

Продуктивність фотосинтезу можна визначити ваговим методом. Він ґрунтується на тому, що листкова пластинка, нагромаджуючи на світлі продукти фотосинтезу, збільшує свою суху масу, а витрачаючи в темноті при диханні і відтоку асимілятів – зменшує. Це збільшення і зменшення сухої речовини певної площі листкової пластинки визначається за допомогою аналітичної ваги.

Хід роботи. Для досліду вибирають листки, що мають симетричну будову. Відрізають половинку листка, залишаючи на рослині другу половинку і середню жилку. Відрізану частину вміщують на 30 хв. у воду до повного насичення. Потім кладуть її на гладенький картон і корковим свердлом вирізають декілька дисків. Висічки вміщують у бюкс і висушують в сушильній шафі при температурі біля 70°C до постійної маси.

Другу пробу із залишеної на рослині половинки листка через 1,5- 2 години перебування її в умовах доброго освітлення, вирізають тим же свердлом висічки симетрично висічкам першої проби. Далі поступають так, як в першому випадку. Знаходять площу висічок. Прибавку маси розраховують в мг за 1 годину на 1 дм² площі листка. Ця величина характеризує так званий *продуктивний фотосинтез*.

Проте, знайдена прибавка в масі не дає цілковитої уяви про величину асиміляції CO₂. З метою точного визначення необхідно враховувати витрати сухої речовини на дихання і відтік асимілятів в інші органи рослини. З цією метою відрізають половинку листка від іншого листка тієї ж рослини, а на другу половинку надівають ковпачок із світло непроникаючого паперу. З обома половинками поступають таким же чином, як це описано вище, враховуючи вже не збільшення маси, а її зменшення в розрахунку на одиницю площі.

Додаючи одержане число зменшення маси сухої речовини за час досліду в результаті дихання до числа прибавки маси, одержимо ближчу

до істини величину асиміляції. Ця величина характеризує собою *загальний* або *істинний* фотосинтез.

Одержані результати вносять в таблицю і роблять відповідні висновки.

Вид рослини	Умови проведення дослідю	Продуктивний фотосинтез	Зменшення маси на дихання і відтікання	Істинний фотосинтез
			мг за 1 год на 1м ²	

Робота 36. Чиста продуктивність фотосинтезу.

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

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 2млн.·м²/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. У посівах 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 листової пластинки. Площу листків визначають за формулою:

$$S = \frac{a \cdot c}{b},$$

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 повітряносухого стану. Одночасно відбирають проби для визначення відсоткового вмісту сухої речовини у кожному органі шляхом зважування і висушування у термостаті при 105° до постійної маси. Через 7–10 днів знову відбирають у посіві 10 рослин і усі операції повторюють.

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

$$\text{ЧПФ} = \frac{A_2 - A_1}{0,5 \cdot (L_1 + L_2) \cdot T},$$

де А₁ і А₂ – абсолютно суха маса рослини на початку і в кінці облікового періоду, г;

Л₁ і Л₂ – площа листків рослини у першій і другій строки визначення, м²;

Т – кількість днів між першим і другим визначеннями.

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

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

Робота 37. **Фізіологічне забезпечення інтенсивних технологій у рослинництві.**

Матеріали і обладнання наведені у роботах 31 і 34.

Оскільки органічна речовина створюється тільки в процесі фотосинтезу, то усі можливі агротехнічні заходи доцільно розглядати як способи створення оптико-біологічних систем (посівів), призначених для найкращого використання енергії сонячної радіації на формування врожаю. Отже, загальне завдання інтенсифікації і оптимізації землеробства полягає в тому, щоб у системі комплексного використання факторів збільшення виробництва продукції своєчасно і якісно оцінити фізіологічний і фітосанітарний стан посівів на основі індикаторної ролі фотосинтезу з наступним прийняттям управлінських рішень. Такий підхід названо "біологізацією технологій".

К.Г. Шашко (1990) біологізацію технологій як науковий напрям, що включає багато різних проблем, об'єднує у такі три комплекси: 1 – вивчення закономірностей формування потенціалу врожайності і його реалізації із врахуванням біології культури і сорту, рівня мінерального живлення, водозабезпечення і стійкості; 2 – розробка методів оцінки фізіологічного стану посівів; 3 – відпрацювання способів його оптимізації.

Потенціал урожайності визначають на сортоділянках, однак цей етап не супроводжується одночасним вивченням фотосинтетичних показників, що утруднює оцінку фізіологічного стану посівів і виявлення факторів, які лімітують формування врожаю. Такі дані можна одержати із експертних оцінок під час маршрутних обстежень, зіставлень характеристик ценозу із середніми багаторічними даними чи даними року-аналогу, врахування метеорологічних даних, погодних аномалій тощо.

На основі оцінки стану посівів виникає можливість видачі рекомендацій про зміну чи уточнення окремих ланок інтенсивної

технології вирощування культури: проведення підживлень рослин, стратегії роботи з ретардантами, необхідності боронування посівів, заходів догляду за посівами, що постраждали від заморозків, посухи, вилягання тощо.

Мета роботи – ознайомитися з динамікою основних фотосинтетичних показників у посівах і оцінити їх за критерієм оптимальності.

Хід роботи. Схема контролю фотосинтетичних показників у посівах найдетальніше розроблена А.О.Ничипоровичем (1956–1988 рр.). У стислому вигляді її можна викласти так.

I. Контроль за формуванням фотосинтетичного апарату рослин (площі листків) у посівах. Площу листків визначають за одним із методів, висвітлених у роботі 20. Наводимо таблицю, на яку можна орієнтуватися при встановленні кореляцій між площею листків і продуктивністю рослин:

Культура	Площа листків однієї рослини, дм ²	Кількість рослин, тис./га	Площа листків у період найбільшого розвитку, тис. м ² /га	Господарська урожайність, ц/га	Біологічна урожайність (суха маса за період вегетації), т/га
Пшениця яра	0,5-0,75	4000	20-30	12-20	3,5-6,0
Кукурудза:					
на зерно	50-70	50	25-35	25-35	4-8
на силос	40-60	70-80	30-50	250-300	4-6
Соняшник:					
на насіння	50-70	50	25-35	15-20	4-5
на силос	40-50	70-80	30-50	250-300	4-6
Картопля	50-60	40-50	25-30	250-350	5-8
Цукрові буряки	30-50	100	30-45	300-350	6-8
Кормові трави	–	–	30-40	20-30	2,5-4
Гарбуз	1000	2,5-3	25-30	250-350	3-5
Листяний ліс	–	–	30-75	–	4-7

Із даних таблиці робимо важливий висновок: незважаючи на великі відміни в розмірах, масі і площі листків у окремих рослин різних видів, сумарна площа листків на 1 га посіву відрізняється мало. Із даних таблиці також видно, що величини врожаїв значною мірою пов'язані саме з розмірами площі листків посівів.

Однак надмірна листкова поверхня, яка майже не збільшує поглинання світлової енергії, проте стимулює витрачання води і поживних речовин, призводить до втрат господарського врожаю. Наростання площі повинно відбуватися так (рис. 1). Фактично встановлені показники площі листків на кожній етапі вимірювань порівнюють з графіком, якщо є відхилення, відшуковують лімітуючий чи стримуючий фактор.

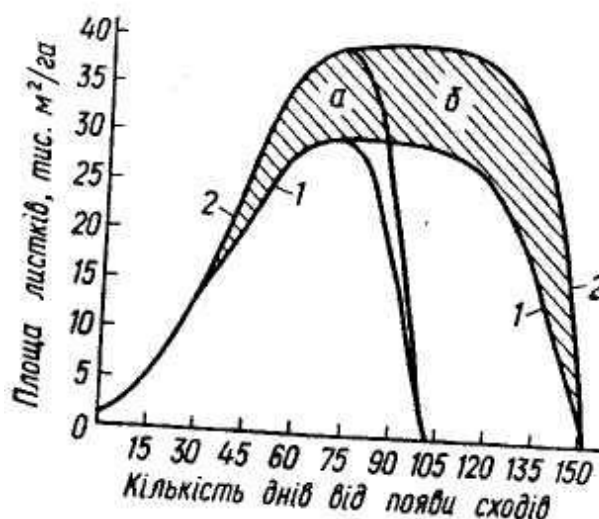


Рис. 1. Оптимальні графіки росту площі листків (криві 1 і 2) сільськогосподарських рослин з тривалістю вегетаційного періоду 100 (а) і 150 (б) днів. (Для різних рослин і умов оптимальні графіки росту листків можуть бути різними і розмішуються вони в заштрихованій зоні між кривими 1 і 2)

II. Оцінка процесу формування фотосинтетичного апарата в посівах з точки зору водного режиму є необхідною умовою отримання запланованих сталих урожаїв. Для забезпечення процесу формування врожаїв рослин за оптимальними графіками пропонується користуватися такою залежністю між випаровуванням води, надходженням сонячної

енергії і площею листків (рис. 2).

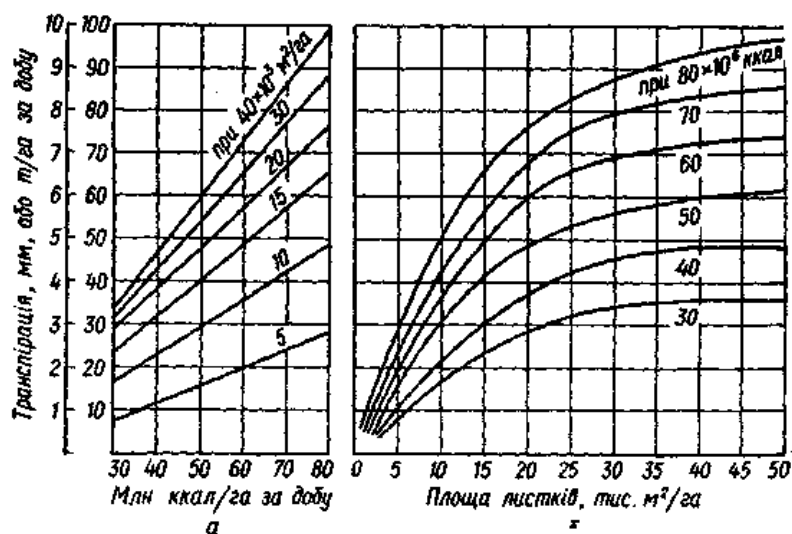


Рис. 2. Випаровування води рослинами у посівах залежно від добового надходження загальної радіації і площі листків:

а – транспірація залежно від добового надходження загальної радіації за різної площі листків;

б – транспірація залежно від площі листків при різних добових надходженнях радіації.

У період максимального розвитку листків витрати води у середньому досягають 60-70 т/га, або 6-7 мм/га за добу. Сумарна витрата води на транспірацію для рослин з вегетаційним періодом 100 днів становить близько 400 мм, для рослин з вегетаційним періодом 150 днів – до 700 мм. Для формування площі листків у посівах за оптимальними графіками при недостатньому водозабезпеченні необхідне застосування спеціальних заходів: системи обробітку ґрунту, формування густоти посівів, підбор культур і сортів, передпосівного загартування рослин за П.О.Генкелем, поливів за фізіологічними показниками тощо.

III. Спостереження за величинами чистої продуктивності фотосинтезу і добовими приростами сухої маси. Для більшості культур величина чистої продуктивності фотосинтезу в середньому дорівнює 4-6 г/м² • добу. За несприятливих умов ця величина зменшується до 2-3 г/м² • добу і нижче. Максимальна величина може досягати 9-14 г/м² • добу, при цьому в злакових у результаті фотосинтезу всіх органів (стебел, піхов

листіків, колоскових лусок, остей) цей показник вищий, ніж у двосім'ядольних рослин. Вважається, що на початку вегетаційного періоду потрібно орієнтуватися на чисту продуктивність фотосинтезу приблизно у $5 \text{ г/м}^2 \cdot \text{добу}$, потім через 30-40 днів показник повинен зростати до $10 \text{ г/м}^2 \cdot \text{добу}$ і на цьому рівні триматися більшу частину вегетаційного періоду (рис. 3, а, крива 2). Крива 1 на рисунку 3, а показує теоретично можливий хід чистої продуктивності фотосинтезу, криві 3 і 4 – хід її за звичайних середніх умов.

На середніх сучасних посівах добові прирости сухої біомаси досягають $100\text{-}150 \text{ кг/га} \cdot \text{добу}$, за оптимальних рівнів водозабезпечення, живлення і, відповідно, фотосинтезу прирости повинні становити не менше $300\text{-}400 \text{ кг/га} \cdot \text{добу}$, однак теоретично можливі $500\text{-}600 \text{ кг/га} \cdot \text{добу}$. Динаміка добових приростів сухої маси зображена на рисунку 3, б: крива 1 – теоретично можливі, 2 – оптимальні, 3 і 4 – фактичні.

Підсумовуючи добові прирости сухої маси, одержують графік процесу нагромадження сухої маси біологічного урожаю ($Y_{\text{біол}}$) за певної продуктивності фотосинтезу (рис. 4). Оптимальний хід процесів (рис. 3, б, крива 2) повинен привести до нагромадження сухої маси (залежно від тривалості вегетаційного періоду) $15\text{-}30 \text{ т/га}$ (рис. 4, крива 2).

Знаючи частку господарської урожайності $U_{\text{біологічній}}$ ($K_{\text{госп}}$), вираховують величину першої за графіками, зображеними на рисунку 5.

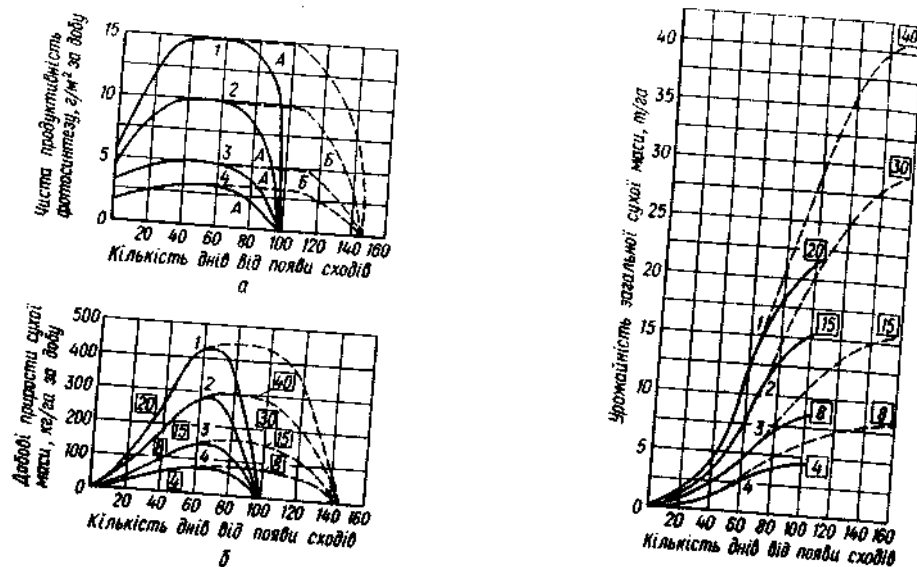


Рис.3. Чиста продуктивність фотосинтезу (а) і добові прирости загальної сухої маси рослин (б) з вегетаційним періодом 100 (А) і 150 (Б) днів:
1, 2, 3, 4 – позначення різних варіантів (пояснення у тексті); цифри у квадратах – загальна біологічна урожайність ($Y_{\text{біол.}}$), що відповідає варіантам

Рис.4. Нагромадження сухої маси урожаю ($Y_{\text{біол.}}$) при чистій продуктивності фотосинтезу, зображеній на рисунку 13, і ріст площі листків у посівах за оптимальним графіком:
суцільні лінії – вегетаційний період 100 днів, пунктирні – 150 днів; цифри у квадратах – урожайність сухоїмаси ($Y_{\text{біол.}}$)

За оптимального ходу процесів господарська врожайність зерна пшениці становить 50 ц/га, зерна кукурудзи – 80 ц/га, бульб картоплі, коренеплодів цукрових буряків, зеленої маси кукурудзи – 450-1000 ц/га. З появою нових сортів і підвишеним співвідношенням $Y_{\text{госп.}}/Y_{\text{біол.}}$ врожаї за таких же значень фотосинтетичних показників повинні бути ще вищими.

IV. Врахування відсотку використаної на фотосинтез енергії сонячної радіації. Залежність між біологічною урожайністю і відсотком використаної сонячної енергії на фотосинтез прямо пропорційна. За різної інтенсивності надходження радіації на посів (можна користуватися даними метеослужб), знаючи коефіцієнт використання сонячної енергії на фотосинтез, величину біологічної урожайності можна встановити за даними рисунка 6.

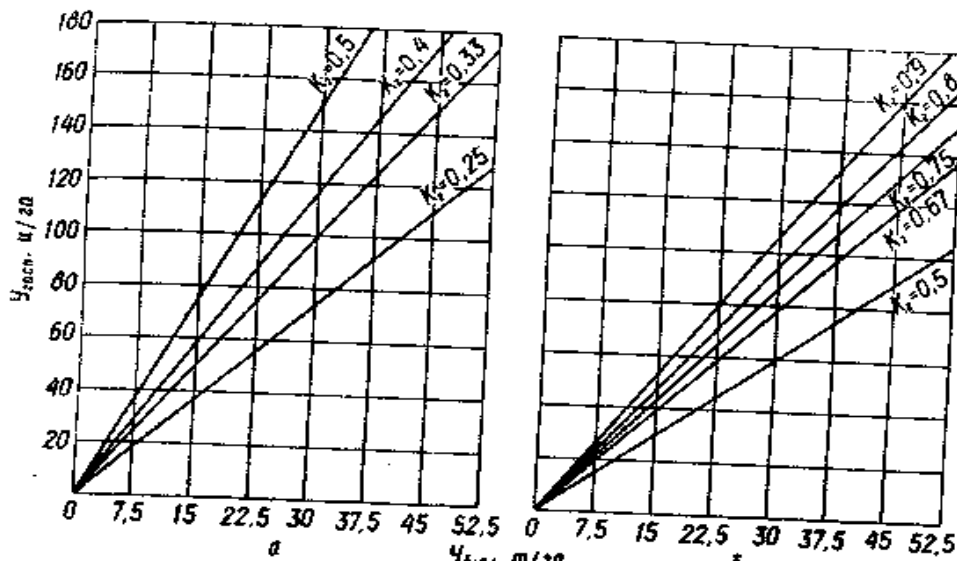


Рис. 5. Біологічна ($Y_{\text{біол.}}$) і господарська ($Y_{\text{госп.}}$) урожайність за різних співвідношень $Y_{\text{госп.}}$ і $Y_{\text{біол.}}$ (K):
а – для зернових культур; б – для коренеплодів, бульбоплодів і кормових рослин

Як видно з цих даних, при 2%-му використанні енергії загальної радіації на фотосинтез і при теплоті згорання сухої маси врожаю 4000 кал/г біологічна урожайність (залежно від кількості енергії, що надходить), повинна становити від 20 до 42 т/га сухої речовини. Величину господарської урожайності знаходять за даними рисунка 5 для зернових культур при найгіршому співвідношенні $Y_{\text{госп}}/Y_{\text{біол}}$ ($K_r 0,25$) вона становить 50-100 ц/га, для коренеплодів ($K_r = 0,5$) – 400-800 га.

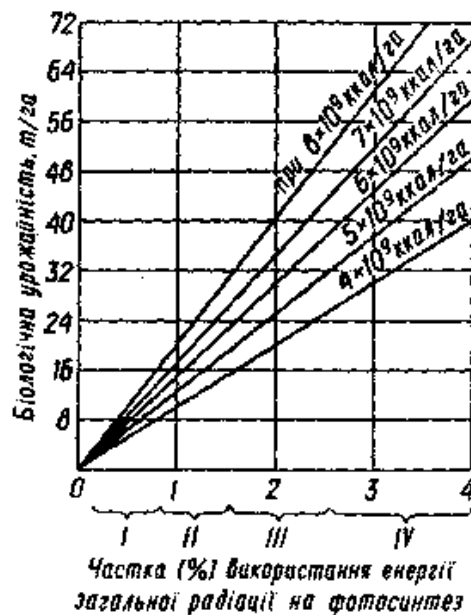


Рис. 6. Залежність біологічної урожайності від частки використанні сонячної енергії (%) на фотосинтез при різному її надходженні протягом вегетації. Показники: I - середні, II добрі III – рекордні, IV – теоретично можливі.

За одержаними даними можна визначити стан посіву і процес фотосинтетичної діяльності, встановити лімітуючі фактори продукційного процесу, дати прогноз урожайності та пропозиції щодо селекційного поліпшення сорту.

КОНТРОЛЬНІ ЗАПИТАННЯ

з розділу:

" ФОТОСИНТЕЗ "

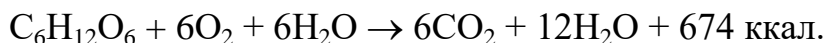
1. Загальна характеристика фотосинтезу, його значення в енергетиці рослини, природі і сільському господарстві.
2. Листок як орган фотосинтезу.
3. Пігменти зеленого листка.
4. Фотосинтетична одиниця.
5. Світлова фаза фотосинтезу.
6. Структурна організація електронно-транспортного ланцюга хлоропласта.
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 і Слека або кооперативний фотосинтез).
11. Внутрішні системи регуляції фотосинтезу.
12. Інтенсивність фотосинтезу та її залежність від умов середовища.
13. Показники фотосинтезу.
14. Фотосинтез як основа продуктивності сільськогосподарських рослин. Урожай біологічний і господарський.
15. Залежність фотосинтезу від структури посіву і режиму ФАР, ККД листків і фітоценозів.
16. Шляхи підвищення продуктивності фотосинтезу в посівах і насадженнях.
17. Світлокультура сільськогосподарських рослин.

РОЗДІЛ V. ДИХАННЯ

Робота 38. Визначення виділеного тепла при диханні насіння, що проростає.

Матеріали і обладнання: 1) насіння пшениці, гороху і соняшнику, що накілчилося; 2) концентрований розчин КОН; 3) термоси (3 шт.); 4) термометри з поділками до $0,1^{\circ}\text{C}$ (4 шт.); 5) склянки на 50 мл (3 шт.); 6) марля.

Утворена в 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 здобування енергії пов'язане з окислювальним розпадом органічних речовин. Тому найважливішою, хоча і не єдиною, функцією біологічного окислення вважають постачання організму доступної для використання форми 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 виша.

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 в різній зміні температури матеріалу, то дихає.

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

Хід роботи. В термоси місткістю 250 мл ставлять по склянці розчином КОН і закривають марлею. Потім у термоси засипають по 50–100 г насіння пшениці, гороху і соняшнику, що проростає. Термоси закривають корком, у який 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:

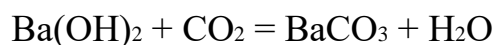
Об'єкт	Температура		Підвищення температури, град.	Переважаючий тип запасних речовин
	зовнішня	у термосі		
Пшениця				
Горох				
Соняшник				

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

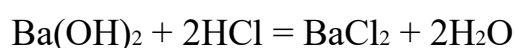
Робота 33. Визначення інтенсивності дихання за кількістю виділеного діоксиду вуглецю (за Бойсен – Іенсеном).

Матеріали і 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 НСl; 4) фенолфталеїн; 5) технічні терези; 6) однакові конічні колби на 250-300 мл (3шт); 7) марлеві мішечки (2шт); 8) бюретки (2шт).

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 відкриття 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 НСl, то на титрування розчину в дослідній колбі повинно піти не більше 8 і не менше 5 мл.

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:

$$I_d = \frac{(a - b) \times K \times 0,55}{p \times t}$$

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 досліду, мл;

K - поправка до титру розчину НСІ, мл; p - наважка, г; t - тривалість досліду, год.

Результати досліду записують за такою схемою:

Об'єкт	Варіант досліджу	Маса проби, гр	Тривалість досліджу, год т	Використано на титрування 0,025 Н розчину НСІ, мг		Поправка до титру НСІ, К	Інтенсивність дихання мг/г/год
				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 досліджу роблять висновок про вплив досліджуваного фактору на інтенсивність дихання об'єкта, вибраного для дослідів.

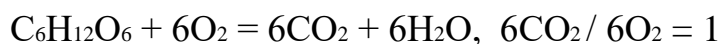
Робота 34. Визначення дихального коефіцієнта проростаючого насіння багатого жирами.

Матеріали і 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 соняшнику, рицини, конопель, пшениці та інших культур; 8) вазелін; 9) 20%-ний розчин КОН.

Дихальний субстрат значною мірою впливає на газообмін у процесі дихання. Щоб характеризувати співвідношення між виділеною вуглекислою і увібраним киснем, користуються показником, який називається дихальним коефіцієнтом (ДК).

$$ДК = \frac{CO_2}{O_2}$$

Величина ДК залежить від ступеню відновленості 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:



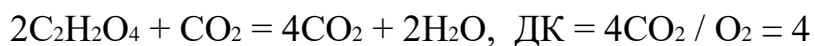
Коли в процесі дихання використовуються жири, наприклад, при диханні насіння олійних рослин, то ДК буде менше ніж одиниця, бо в молекулі жиру менше кисню, ніж у молекулі вуглеводу і для окислення жиру витрачається більше кисню:



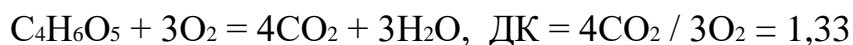
стеаринова кислота

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:



щавлева кислота



яблучна кислота

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.

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 - соняшнику, 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 знаходилось 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 (А, мм).

Далі корок з трубкою обережно виймають із пробірки з насінням олійної культури, 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 (В, мм), оскільки виділена вуглекислота поглинається лугом. Якщо позначити об'єм поглинутого кисню $-O_2$, а об'єм вуглекислого газу $-CO_2$, то знаючи А і В, легко знайти дихальний коефіцієнт:

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

Результати досліду записують за такою схемою:

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

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

Робота 35. Ознайомлення з рослинними дегідрогеназами.

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

Дихання складається із ряду окислювально-відновних реакцій, в процесі яких водень дихального субстрату відновлює кисень повітря з утворенням H_2O чи H_2O_2 . На утворення води витрачається чотири електрони ($O_2 + 4H^+ + 4e^- \rightarrow 2H_2O$), перекису водню - два електрони ($O_2 + 2H^+ + 2e^- \rightarrow H_2O_2$). Оскільки кисень є кінцевим акцептором електронів, то окислення за його участю називають термінальним. Множинність дихальних ланцюгів визначається термінальними ланками окислювального ланцюга і дає можливість мобілізувати електрони від багатьох субстратів, а при зміні умов середовища дозволяє компесувати функції однієї системи іншими.

Ферменти, що каталізують перенесення електронів і протонів по електронотранспортних ланцюгах, поділяють на три групи: дегідрогенази (ферменти, що активують і переносять водень), оксидази та оксигенази (ферменти, які активують кисень) і ферменти, що виконують роль проміжних переносників електронів.

Дегідрогенази каталізують дегідгування дихального субстрату. Акцептуючи водень і електрони, деякі з них виконують функції оксидаз, передаючи елементарні частки безпосередньо на кисень. Такі дегідрогенази називають аеробними, до складу їх коферменту входять похідні рибофлавіну (вітаміну B_2). Представниками коферментів є флавінаденіндинуклеотид (ФАД) і флавінмононуклеотид (ФМН).

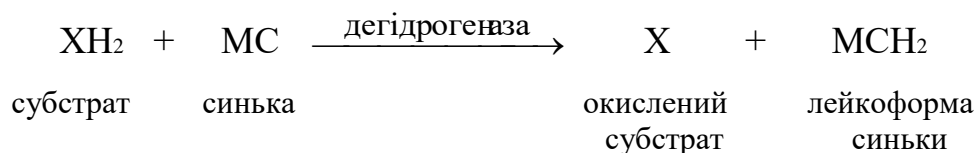
Анаеробні, або піридинові, дегідрогенази (коферменти НАД і НАДФ) не можуть передавати електрон і протон на кисень.

Оксидази каталізують перенесення електронів безпосередньо на кисень, усі вони є термінальними ферментами. До складу одних оксидаз входить залізо (пероксидаза, цитохромоксидаза, цитохром P₄₅₀), до інших - мідь (поліфенолоксидаза, аскорбіноксидаза).

Між дегідрогеназами і термінальними оксидазами мітохондріального дихального ланцюга знаходяться проміжні переносники електронів: флавопротеїновий комплекс, коензим Q, ланцюг цитохромів В, С, С₁, а, а₃.

Оксигенази каталізують пряме впровадження кисню у молекулу субстрату. Таке окислення, частка якого в загальному окисленні становить близько 5%, можуть здійснювати, поряд з оксидазними функціями, пероксидаза і поліфенолоксидаза.

Метод визначення активності дегідрогеназ (анаеробних) заснований на властивості їх за рахунок дегідрування відповідних субстратів відновлювати в анаеробних умовах барвники з низьким потенціалом. Таким барвником може бути метиленова синька, яка використовується як водневий акцептор. Цей барвник, приєднуючи Н₂, перетворюється в безбарвну відновлену сполуку - лейкоформу метиленового синього. Відновлення метиленового синього проходить за наступною схемою:

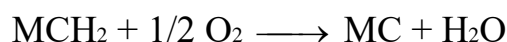


Хід роботи. Беруть 20 набубнявілих насінин гороху, знімають з них насінєву оболонку і ділять їх порівну в дві пробірки. Одну порцію насіння заливають водою і кип'ятять на протязі 10 хв для руйнування

ферментів. Після кип'ятіння воду з пробірки виливають і заливають обидві частини насіння метиленовим синім на 5-10 хв. Потім барвник зливають і насіння промивають водою. Для створення анаеробних умов пробірки заливають холодною кип'яченою водою до верху і закорковують.

Після цього пробірки ставлять на водяну баню з температурою 30°C. Через 1-2 години живе насіння в пробірці втратить синій колір, оскільки дегідрогенази, що беруть участь в диханні клітин, активували і акцептували водень від дихального матеріалу і передали його метиленовому синьому, який в результаті цього відновлюється і знебарвлюється.

Знебарвлене насіння виймають з пробірки в фарфорову чашечку і залишають на повітрі. Через деякий час насіння знову набуде синього кольору, внаслідок окислення метиленового синього киснем повітря:



В контрольній пробірці колір насіння залишиться синім, тому що при кип'ятінні дегідрогенази руйнуються.

На основі спостережень роблять відповідні висновки.

Робота 36. Визначення порівняльної активності дегідрогеназ в різних рослинних тканинах.

Матеріали і обладнання наведені у роботі 33.

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.

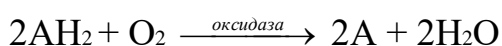
Беруть 1 г рослинного матеріалу, розтирають в ступці в 5 мл 0,87%-ного розчину K_2HPO_4 і переносять всю суміш в пробірку. Пробірку ставлять на водяну баню або в термостат з температурою 37 °С. Через 15 хв. в пробірку додають 1 мл водного розчину метиленового синього (0,05%) і добре перемішують. Для 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 знебарвлювання метиленового синього в хвиликах. На основі одержаних результатів роблять висновки про активність дегідрогеназ в різних рослинних об'єктах.

Робота 35. Виявлення поліфенолоксидази і пероксидази в рослинних об'єктах.

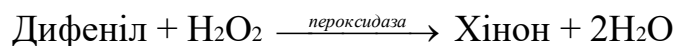
Матеріали і обладнання: 1) бульби картоплі - свіжі і варені; 2) пагони кінського каштана, дуба та інших деревних рослин, корені хрину і редьки; 3) 1%-ний спиртовий розчин гваякової смоли в крапельниці; 4) 3%-ний розчин H_2O_2 в крапельниці; 6) пінцет; 7) електроплитка; 8) тарілка; 9) фільтрувальний папір.

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 поліфеноли і ароматичні аміни киснем пероксиду водню:



Виявити поліфенолоксидазу можна 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 результатом 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.

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. Взаємозв'язок процесів бродіння і дихання.
5. Гліколіз як підготовчий етап аеробного дихання, його енергетика.

6. Цикл трикарбонових кислот. Енергетика циклу Кребса.
7. Цикл гліоксалевої кислоти. Фосфоглюконатний шлях окислення вуглеводів.
8. Окислювальне фосфорилування. Механізм переносу електронів і трансформація енергії в електронно-транспортному ланцюгу мітохондрій.
9. Дихання - центральна ланка обмінних процесів рослинного організму. Взаємозв'язок дихання з обміном азотистих речовин, вуглеводів і ліпідів.
10. Дихальний коефіцієнт і його залежність від природи окислювального субстрату.
11. Дихальний газообмін рослин як фактор продукційного процесу. Взаємозв'язок процесів фотосинтезу і дихання.
12. Дихальний газообмін фітоценозів і його залежність від умов зволоження, мінерального живлення і архітекtonіки посіву.
13. Способи керування диханням рослин.

РОЗДІЛ VII. ФІЗІОЛОГІЯ ОНТОГЕНЕЗУ РОСЛИН

Робота 44. Визначення життєздатності насіння методом забарвлення (за Д.Н. Нелюбовим).

Матеріали і обладнання: 1) насіння гороху, замочене у воді за 10-15 годин до заняття; 2) 0,1%-ний розчин індигокарміну; 3) чашки фарфорові (2шт); 4) склянка хімічна; 5) препарувальна голка; 6) електроплитка; 7) олівець по склу.

Метод забарвлення насіння для визначення його схожості оснований на непроникності живої цитоплазми для деяких барвників (індигокармін, кислий фуксин), тоді як мертва цитоплазма легко забарвлюється. Бувають випадки, коли зародок мертвий і разом з тим, при зануренні насіння в розчин барвника воно не забарвлюється із-за того, що оточуючі зародок тканини насіння не пропускають барвник. В зв'язку з цим необхідно попередньо розкрити зародок: у насіння з епідермісом добути зародок або розрізати насінну сім'ядолю, а у насіння без ендосперму зняти насіневі покрови.

Підготовлене описаним способом насіння витримують у розчині барвника від 1 до 3 годин (залежно від виду рослин) і оцінюють життєздатність насіння: насіння з повністю забарвленими зародками або з забарвленими корінчиками вважають не схожим, насіння не забарвлене або з частково забарвленими сім'ядолями відносять до числа життєздатного.

Даний метод використовують для швидкої оцінки схожості насіння гороху, квасолі, люпину, конопель, гарбузових.

Хід роботи. Відраховують, не відбираючи, дві порції по 10 набубнявілих насінин. Одну порцію поміщають в склянку з водою і кип'ятять протягом 5 хвилин (контроль). Обережно, не пошкоджуючи

сім'ядолі, обчищають препарувальною голкою насіння обох порцій від шкірочки, поміщають у фарфорові чашки, заливають розчином індигокарміну і витримують 1 годину, після чого зливають барвник назад у пляшку, а насіння промивають водою від надлишку барвника.

В дослідній порції підраховують кількість забарвлених, частково забарвлених і не забарвлених насінин.

Результати підрахунків записують в зошит і роблять відповідні висновки.

Робота 45. Фізіологічна оцінка життєздатності насіння.

Матеріали і обладнання: 1) старе насіння гороху і кукурудзи, замочене звечора у воді; 2) 0,1 %-й розчин індигокарміну 3) 2%-й розчин сечовини; 4) 10%-й розчин оцтовокислого свинцю; 5) фарфорові чашки (4 шт.); 6) хімічні стакани (2 шт.); 7) препарувальна голка; 8) ростильник з піском; 9) термостат; 10) водяна баня; 11) фільтрувальний папір; 12) паперові фільтри (2 шт.).

Енергія проростання забезпечує не лише сам процес проростання, але й ріст проростка. У запасних тканинах і життєздатному зародку при набуханні активізуються гліколітичні процеси і синтез білків, потім відбувається витрачання запасів насіння і синтез нових ферментних систем у зародку на іРНК, сформованій ще у батьківському організмі. Поява первинного корінця свідчить про перехід на анаболічний шлях розвитку. З якими саме біохімічними процесами пов'язане проростання, до кінця не встановлено. Однак відомо, що фактори, які індукують і стимулюють проростання достиглого і спочиваючого насіння, не впливають на синтез РНК і білка (Гекер М., Бернгардт Д., 1976).

У міру старіння насіння енергія проростання і ріст проростків знижується. Наприклад, проростання молодих зародків пшениці

пригнічується при пересаджуванні їх як на ендосперм п'ятирічних і більш старих насінин, так і на однорічний ендосперм (Флорісс, 1970). Вважають, що з віком у зародку і в ендоспермі нагромаджуються метаболіти, які депресують первинні, пов'язані з проростанням процеси. Серед таких метаболітів виявляються моно-, ди- і олігосахариди та амінокислоти. По мірі втрати схожості при зберіганні кількість таких речовин у водних витяжках зростає. К. Такаянагі (1977) запропонував простий і швидкий метод визначення життєздатності насіння за вмістом глюкози у витяжках із нього; ефективність методу перевірена на насінні багатьох рослин. Г. Ліндер (1976) вважає кращим методом встановлення польової схожості насіння визначення електропровідності 24-годинних витяжок із нього. Із збільшенням віку насіння електропровідність витяжок зростає як за природного зберігання, так і в штучних умовах під дією несприятливих факторів.

Оперативно оцінити схожість насіння гороху, квасолі, люпину, льону, коноплі, гарбузових тощо можна за допомогою методу Д.М. Нелюбова: тканини несхожого насіння стають проникними, легко пропускають фарбу (індигокармін, кислий фуксин) і забарвлюються; зародки і сім'ядолі життєздатного насіння залишаються безбарвними.

Мета роботи – визначити схожість насіння методом водних витяжок та забарвлення.

Хід роботи. *Метод водних витяжок.* Воду після настоювання насіння зливають у склянку, по краплях додають розчин оцтовокислого свинцю до припинення утворення осаду і фільтрують. Потім розчин переносять у чашку і випарюють на водяній бані до невеликого об'єму (1–2 мл). Цукри у витяжці можна виділити за допомогою кругової секторної хроматограми, або просто нанести пляму на фільтрувальний папір, висушити і обробити 2%-м розчином сечовини (цей же розчин придатний

для проявлення хроматограм). Папір висушують у термостаті при температурі 100° протягом 10 хв. На папері чи на хроматограмах витяжок із життєздатного насіння цукрів виявляється дуже мало, а плями забарвлюються у жовтий або синій колір; із насіння з пониженою схожістю плями великі і забарвлені у зелений чи коричневий колір. Метод придатний для визначення життєздатності як партій насіння, так і окремих насінин, які після дослідження можна використати для дальшого зберігання і практичного застосування. Цей метод являє особливий інтерес для лісового господарства, а також для випадків, коли необхідно висіяти обмежену кількість старого насіння.

Метод фарбування. Відбирають по 10 набубнявілих насінин гороху і кукурудзи. Обережно, щоб не пошкодити сім'ядолі і ендосперм, препарувальною голкою знімають із насіння оболонку, поміщають його у фарфорову чашку, заливають розчином індигокарміну на 1 год, після чого фарбу зливають, а насіння промивають водою. Підраховують кількість забарвлених, частково забарвлених і незабарвлених насінин. Щоб перевірити ефективність методу, все обстежене насіння, поділивши на схоже і несхоже, висаджують у ростильник і залишають на тиждень у темному місці, щоденно поливаючи водою. Результати дослідів оформляють у вигляді таблиці:

Культура	Взято насінин, шт.	Кількість насінин, шт					
		не забарвлених		частково забарвлених		забарвлених	
		усього	про-росло	усього	про-росло	усього	про-росло

Робота 46. Визначення зон росту органів рослин.

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

Для вивчення ростових процесів широко використовують метод нанесення міток на поверхню органу через певні проміжки. По мірі росту органу відстані між мітками збільшуються, що може бути використано 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.

Хід роботи. *Визначення зони росту кореня.* 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 скляну 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. 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°C, 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 за схемою, яка використовується при визначенні зони росту кореня.

Роблять висновок про характер росту стебла.

Робота 47. Визначення росту за допомогою горизонтального мікроскопа.

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

Метод заснований на обліку зміщення наростаючого кінчика кореня рослини 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 верхівку стебла. Співставляють верхівку стебла з якою-небудь поділкою, шкали окуляр-мікрометра і відмічають зміщення наростаючої верхівки 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.

Робота 48. Вплив гетероауксину на ріст коренів.

Матеріали і обладнання: 1) насіння кукурудзи або пшениці; 2) 0,01%-ний розчин гетероауксину; 3) чашки Петрі; 4) піпетки на 1 мл; 5) мірні циліндри на 10 мл; 6) фільтрувальний папір.

Суть методу полягає в пророщуванні насіння на розчинах гетероауксину різних концентрацій і обліку довжини корінчиків.

Хід роботи. П'ять чашок Петрі застилають фільтрувальним папером, який зволожують 9 мл води або розчину гетероауксину 0,01; 0,001, 0,0001, і 0,00001%-ної концентрації. Для одержання вказаних концентрацій 1 мл початкового 0,01%-ного розчину гетероауксину: наливають в мірний циліндр на 10 мл і доливають водою до риски, добре перемішують, потім 9 мл переносять в чашку Петрі, а 1 мл, що залишився, розводять водою до риски і т. д.

На зволожений фільтрувальний папір в чашках Петрі розкладають по п'ять зернівок кукурудзи або пшениці, чашки накривають кришками і ставлять їх в темне місце при температурі 20-25° С. На наступному занятті (через тиждень) вимірюють довжину корінчиків і роблять висновки про гальмування і активацію росту коренів в залежності від концентрації гетероауксину.

Результати вимірювання записують в таблицю і роблять висновки про вплив гетероауксину на ріст коренів.

Варіанти досліду	Сумарна довжина корінчиків, см	Середня довжина корінчиків на 1 рослину, см	Довжина корінчика, % до контролю
Водопровідна вода (контроль)			
Розчин гетероауксину, %			
0,01			
0,001			
0,0001			
0,00001			

Робота 47. Вкорінення живців за допомогою регуляторів росту.

Матеріали і обладнання: 1) 10-15 добові проростки квасолі; 2) 0,01%-ний розчин гетероауксину (ІОК); 3) промитий пісок в суміші з торфом; 4) волога камера або поліетиленовий мішок; 5) склянки; 6) бритва.

Регулятори росту прискорюють утворення коренів у живців, підвищують відсоток приживлюваності рослин, що важко вкорінюються (яблуня, груші, слива, черешня, клен, каштан, береза та ін.). Утворенню

коренів на живцях сприяють гетероауксини, а також в дуже низьких концентраціях препарати 2,4Д і 2,4ДМ, крім цього індоліл-масляна кислота, α -нафтилоцтова кислота. Рекомендувати один який-небудь регулятор росту, як найбільш ефективний для всіх рослин неможливо, оскільки кожний вид рослин по своєму реагує на обробіток тим чи іншим препаратом. Обробіток можна проводити будь-яким методом, який забезпечить проникнення всередину живця достатньої кількості препарату. В практиці найбільше застосування знайшов обробіток живців водним розчином певного регулятора росту. Для одержання водного розчину регулятора росту певну його наважку розчиняють в невеликій кількості етилового спирту. Одержаний розчин розводять водою до потрібної концентрації. Якщо препарат добре розчиняється у воді, то потреба в попередньому розчиненні в спирті відпадає. Порівняно добре розчиняються у воді калійні і натрієві солі регуляторів росту.

Живці квасолі досить легко вкорінюються, але коренеутворення в них значно підсилюється під дією обробітку регуляторами росту.

Хід роботи. Готують 8-10 живців з 10-15 денних рослин квасолі. Для цього зрізують рослини біля кореневої шийки, видаляють листки й верхню частину пагону. Потім 4-5 живців занурюють на третю частину їх довжини в раніше приготовлений 0,01%-ний розчин гетероауксину з експозицією 3-4 години.

Живці, що залишились, занурюють таким же способом в водопровідну воду. Після настоювання живці ополіскують водою й висаджують у піщано-торфову суміш, яка знаходиться в вологій камері. Досліджувані й контрольні рослини можна також помістити в фаянсові або скляні посудини, загорнуті в чорний папір, наповнені на третину довжини живця водопровідною водою і залишені на світлі при кімнатній температурі. Через тиждень проводять аналіз контрольних і досліджуваних

живців. Заміряють довжину зони ризогенезу і підраховують кількість корінців на кожному живці.

Результати спостережень записують в таблицю.

Варіант	Довжина зони ризогенезу		Кількість корінців		Сумарна довжина корінців	
	см	%	шт.	%	см	%

Роблять висновки про екзогенну роль гетероауксину в утворенні коренів і практичному використанню його синтетичних аналогів в рослинництві, плодівництві, квітникарстві.

Робота 50. Переривання періоду спокою в бульб картоплі за допомогою тіосечовини.

Матеріали і обладнання: 1) бульби картоплі; 2) 1-2%-ний розчин тіосечовини; 3) кристалізатор або банка на 1 л; 4) піддон; 5) кварцевий пісок.

Хід роботи. Чотири-п'ять бульб, що знаходяться в стані спокою, заливають в скляній банці водопровідною водою, а в другій банці – 1-2%-ним розчином тіосечовини і залишають на 2-3 години. Потім бульби висаджують у вологий пісок в піддони і ставлять в теплицю при 20-25°C. Відмічають початок проростання дослідних і контрольних бульб, роблять висновок про значення обробітку картоплі тіосечовиною.

Результати досліду записують в таблицю і роблять висновки про вплив тіосечовини на проростання бульб картоплі.

Варіанти дослідів	Кількість бульб, що проросли			Стимулювання проростання бульб тіосечовиною, % до контролю
	через 1 тиждень	через 2 тижні	всього	
Водопровідна вода (контроль)				
1-2 %-ний розчин тіосечовини				

Робота 51. Апікальне домінування у рослин.

Матеріали і обладнання : 1) рослини гороху, або соняшнику висотою 15-20 см, вирощені у вегетаційних посудинах; 2) лезо безпечної бритви; 3) ланолінова паста з ІОК.

Апікальне домінування в рослин полягає в пригніченні росту бокових бруньок верхівкою. Доведена роль ауксину в явищах апікального домінування, який утворюється у верхівковій бруньці і відтікає з неї, проявляючи гальмуючу дію на нижче розміщені бруньки. Так само впливає кінчик кореня на вище розміщені зони кореня. Видалення або пошкодження верхівкової бруньки знімає апікальне домінування і викликає пробудження сплячих бруньок і ріст бокових пагонів. На знятті апікального домінування застосовують ряд заходів в рослинництві, наприклад, чеканка, пікіровка і т.д. Пригнічуючи вплив верхівкової бруньки на ріст бокових бруньок можна викликати за допомогою хімічних аналогів ауксину, наприклад, індолілоцтової кислоти (ІОК), наносячи її у вигляді ланолінової пасти на поверхню зрізу після видалення верхівки.

Хід роботи. Досліди проводять на попередньо вирощених рослинах у вегетаційних посудинах. Спостереження зручно проводити на рослинах гороху, соняшнику, які досягли висоти 15-20 см. В посудинах з однієї третини рослин верхівки залишають цілими (контроль), а в тих, що залишились, їх зрізують. В половини рослин на місце видаленої верхівки наносять ланолінову пасту з ІОК, а другу половину - залишають без нанесення пасти. Через декілька днів роздивляються бруньки в рослин різних варіантів досліду.

Роблять висновок про причини різного стану бруньок і різну інтенсивність росту бокових пагонів в контрольних і дослідних рослин.

Робота 52. Геотропізм рослин.

Матеріали і обладнання: 1) проросле насіння гороху або кукурудзи; 2) скляна банка об'ємом 0,5 л; 3) чашка Петрі; 4) квадратна дерев'яна пластинка, що вільно входить в банку; 5) фільтрувальний папір; 6) канцелярські шпильки; 7) щільний папір.

Геотропізм - властивість органів рослини займати певне положення під дією сили земного тяжіння. Кореням властивий позитивний геотропізм, тобто вони ростуть у напрямку дії земного тяжіння. Стебло росте в протилежному до дії земного тяжіння напрямку, а тому йому властивий негативний геотропізм. Сприйняття дії сил гравітації здійснюють конуси наростання пагонів і коренів.

Завдяки позитивному геотропізмові при проростанні насіння кореня завжди заглиблюються в ґрунт, а стебло, завдяки негативному геотропізму, росте догори, а при поляганні часто через деякий час піднімається.

Геотропічні згини утворюються тільки в молодих частинах стебла і кореня, які ростуть.

Існує кілька гіпотез, що пояснюють геотропізм рослин. Найбільш поширена з них гіпотеза Вента-Холодного допускає горизонтальний (латеральний) перерозподіл ауксину. У ростучих, але розташованих горизонтально пагонах ауксин скупчується на нижній стороні, вона росте швидше і пагін загинається вгору. В коренях у випадку їх горизонтального положення ауксин також скупчується на нижній стороні, але клітини кореня більш чутливі до ауксину, і він діє на них уже не як стимулятор, а як інгібітор, тому корінь згинається і росте донизу.

Хід роботи. Щоб вивчити геотропізм і визначити зону геотропічного згину, дерев'яну пластинку обгортають фільтрувальним папером і прикріплюють до неї одну-дві пророслі насінини корінцями вгору і декілька насінин корінцями вниз. Потім стінки банки зсередини вистилають фільтрувальним папером (для створення вологої камери), наливають у банку 1/5 об'єму води і ставлять у неї вертикально дерев'яну пластинку з прикріпленими проростками. Банки обгортають щільним папером і накривають чашкою Петрі. На слідуєчому занятті спостерігають і замальовують геотропічні згини стебла і кореня.

У висновках відмічають місце сприйняття впливу земного тяжіння, зону геотропічного згину і їх механізм.

КОНТРОЛЬНІ ЗАПИТАННЯ

з розділу:

" ФІЗІОЛОГІЯ ОНТОГЕНЕЗУ РОСЛИН "

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. Використання фітогормонів і їх синтетичних аналогів у рослинництві і плодівництві.
7. Типи росту органів рослин.
8. Залежність росту від зовнішніх і внутрішніх факторів.
9. Закон великого періоду росту.
10. Кореляція ростових процесів органів рослин.
11. Явище полярності у рослин.
12. Подразнення, збудження і реакція в рослин.
13. Тропізми і настії.
14. Спокій рослин і його види.
15. Фізико-хімічні і біологічні основи спокою рослин.
16. Штучне переривання спокою рослин.
17. Фізіологія проростання насіння.
18. Роль внутрішніх і зовнішніх факторів у проростанні насіння.
19. Онтогенез рослин.
20. Теорії індивідуального розвитку рослин.
21. Роль фізичних і хімічних факторів у формотворчих процесах.
22. Вплив фізичних і хімічних факторів на розвиток рослин.
23. Взаємозв'язок вікових змін і генеративного розвитку рослин.
24. Органогенез основних сільськогосподарських культур.
25. Фенологічні фази розвитку сільськогосподарських культур.

26. Старіння і омолодження рослин.

27. Управління вегетативним розвитком і старінням рослин.

РОЗДІЛ VIII. ПРИСТОСУВАННЯ ТА СТІЙКІСТЬ РОСЛИН ДО НЕСПРИЯТЛИВИХ ЗОВНІШНІХЬ ФАКТОРІВ

Робота 53. Визначення водеутримуючої здатності рослин методом в'янення.

Матеріали і обладнання: 1) різні рослини, добре политі на ніч; 2) торзійна вага або технохімічні терези з різноважками; 3) ножиці.

В регулюванні водообміну рослин значна роль належить здатності клітин утримувати воду і зберігати в результаті цього певний рівень водозабезпечення. Одні рослини при недостатній кількості вологи швидко підвищують водеутримуючу здатність, інші не можуть швидко розвивати водеутримуючі сили і зневоднюються.

Підвищення водеутримуючої здатності є інтегральним показником, який виражає комплекс фізіологічних перебудов, що проходять в протоплазмі клітин і спрямованих на перенесення несприятливого водозабезпечення. Тому водеутримуюча здатність клітин і тканин є одним із важливих фізіологічних показників, що використовується для оцінки стійкості рослин до впливу несприятливих факторів середовища, особливо посухи, високих і низьких температур.

Водоутримуюча здатність досліджуваних об'єктів характеризується втратою води за певний проміжок часу і виражається у відсотках від її початкової кількості.

Хід роботи. За декілька годин до виконання досліду для забезпечення повного насичення листків водою рослини добре поливають. Дослід проводять на однотипових листках різних рослин. Можна порівнювати також водоутримуючу здатність листків різних ярусів (нижніх, середніх і верхніх) однієї рослини.

Зрізані листки зважують на торзійній вазі і потім підвішують або кладуть на папір за однакових умов освітлення, вентиляції і температури. В такій же послідовності проводять чергові зважування через 15 хв, 30 хв, 1 год, 2 години. Вираховують після кожного зважування для кожного листка кількість води, що випарувалася у відсотках до його початкової маси. Будують графік за допомогою якого показують динаміку водовіддачі різних рослин або листків різних ярусів. Роблять висновок про водоутримуючу здатність досліджуваних об'єктів.

Робота 54. **Визначення в'язкості цитоплазми мезофітів і сукулентів.**

Матеріали і обладнання: 1) об'єкти досліджень (цибуля ріпчаста, листки алое і ін.); 2) нейтральний червоний (1:5000); 3) фільтрувальний папір; 4) 1 М розчин сахарози; 5) вазелін; 6) лезо бритви; 7) предметні і накривні скельця; 8) мікроскоп; 9) препарувальна голка; 10) годинникове скло або скляночка з кришечкою на 50-100 мл.

При зниженні температури збільшується в'язкість протоплазми, а при підвищенні температури – навпаки, знижується. При зміні в'язкості протоплазми змінюється і обмін речовин в рослині, що спричиняє вплив на здатність рослин пристосовуватись до зміни умов навколишнього середовища. Тому за характером зміни в'язкості протоплазми під впливом температури середовища можна вести мову про стійкість до температурного фактора.

Метод ґрунтується на тому, що при зануренні об'єкту в розчин сахарози через деякий час в клітинах настає плазмоліз. В залежності від в'язкості протоплазми швидкість настання плазмолізу буде неоднаковою. Час, необхідний для переходу увігнутого плазмолізу у випуклий, є мірилом в'язкості протоплазми.

Хід роботи: Готують поперечний зріз листка (алоє, епідермісу цибулі або листків іншого мезофіту), кладуть його на годинникове скло і на протязі 5-10 хв забарвлюють нейтральним червоним (1:5000). Після промивання зрізи підсушують фільтрувальним папером і переносять на предметне скло в краплю 1 М розчину сахарози. Прикривають зрізи накривним скельцем, краї якого змащують вазеліном, щоб попередити випаровування води. Спостерігаючи за зрізами під мікроскоп. Відмічають час настання увігнутого і випуклого плазмолізу. Спостереження вважають закінченим, якщо опуклий плазмоліз, настане в 90-95% клітин. За швидкістю настання плазмолізу визначають ступінь в'язкості протоплазми.

Робота 55. Виявлення захисної дії цукрів на цитоплазму клітин при заморожуванні.

Матеріали і обладнання: 1) коренеплід червоного буряка; 2) 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) олівець для скла; 14) шматочки фільтрувального паперу; 15) ФЕК.

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.

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 ФЕК'а при зеленому світлофільтрі (напроти дистильованої води).

Результати записують в таблицю.

Варіант	Забарвлення зовнішнього розчину в балах	Оптична густина розчину
Вода		
Сахароза 0,5 М		
Сахароза 1 М		

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

Робота 56. **Прискорений метод визначення стану озимих.**

Матеріали і обладнання: 1) ножиці; 2) чашка Петрі; 3) марля або вата; 4) поліетиленова плівка; 5) фільтрувальний папір.

В зимовий і ранньовесняний період істотно змінюються погодні умови. Значні морози переходять у короточасні і тривалі відлиги. Така постійна зміна погодних факторів значно виснажує організм рослин і може навіть призвести його до загибелі. У несприятливі роки загибель посівів озимої пшениці сягає іноді 70-80%. Комплекс несприятливих факторів взимку і рано навесні може викликати в рослин такі явища, як випрівання, вимокання, випирання, зимову кірку. А тому надзвичайно важливим є з'ясування стану посівів озимих культур в цей період, зокрема, визначення стану рослин і їх життєздатність.

Стан озимих у зимово-весняний період можна визначити шляхом спостереження приростів меристематичної тканини в обрізаних вузлів кущіння.

Хід роботи: Проби для аналізу по 20-50 рослин відбирають по діагоналі ділянки (поля). Після відтаювання рослини відмивають від ґрунту і обрізають листки й стебла на відстані 1-1,5 см від вузла кущіння. Кореневу систему видаляють повністю. Обрізані вузли кущіння ставлять в чашки Петрі, на дно яких вистеляють добре змочений шар вати або марлі. Чашки Петрі накривають кришками. Проби тримають 12-16 годин при температурі 24-26 °С. Аналіз проб проводять по відрослій частині вузлів кущіння, приріст яких до цього часу складає 3-15 мм. Рослини, вузли кущіння яких дають інтенсивний приріст (біля 10 мм і більше) вважають такими, що добре збереглися і в подальшому за нормальних умов можуть забезпечити врожай. Слабкий приріст (3-5 мм) вказує на те, що рослини значною мірою пошкоджені і продуктивність їх буде низькою.

Результати досліду записують за слідуючою схемою:

Варіант	Приріст, мм	Кількість рослин, що відросли, %	Висновки про стан посівів
---------	-------------	-------------------------------------	------------------------------

На основі проведених досліджень роблять висновки про стан озимих.

Робота 57. **Визначення життєздатності озимих шляхом забарвлення тканин.**

Матеріали і обладнання: 1) 0,3 % розчин кислого фуксину; 2) лезо бритви; 3) препарувальна голка; 4) предметні та накривні скельця; 5) мікроскоп або біокуляр; 6) крапельниця чи піпетка.

Про стан життєздатності озимих в зимовий і ранньовесняний періоди можна судити за станом конусу наростання рослин. Ці спостереження проводять за допомогою його забарвлення певними барвниками.

Метод забарвлення тканин конусу наростання оснований на тому, що цитоплазма живих клітин непроникна для деяких барвників (індігокармін, кислий фуксин).

Хід роботи. Для визначення стану клітин стеблового конусу наростання відбирають проби рослин озимих, як зазначено в роботі 56. Після їх відтаювання від вузла кушіння беруть частину стебла довжиною 1-1,5 см. По його центру роблять повздовжній зріз, після чого продивляються лише одну половину, яку попередньо занурюють в 0,3%-ний розчин фуксину на 15 хв. Потім за допомогою піпетки або крапельниці розчин барвника змивають до тих пір, доки стікаюча з них вода не стане безбарвною. Після цього зрізи накривають накривальними скельцями і роздивляються під мікроскоп або біокуляр при 70-100 кратному збільшенні. Стан пагона оцінюють по тому місцю зрізу, де знаходиться конус наростання, оточуючі його листки і нижня частина стебла. Живі

клітини цих тканин після забарвлювання зрізів і промивання водою залишаються блідо-зеленими або безбарвними; пошкодженні забарвлюються в блідо-рожевий колір; ті, що загинули стають яскраво-червоними. При дослідженні зрізів звертають увагу на наступне: 1) забарвлений в рожевий колір тонкий прошарок клітин стеблевої частини пагона під конусом наростання (при цьому пошкодженні відмирання пагона може проявитися дуже пізно - перед колосінням, утворені колоски можуть бути безплідними; 2) забарвлення в червоний або рожевий колір клітини стеблевої частини пагону і клітини конусу наростання свідчить про значні пошкодження посівів. Якщо в рослині найбільш розвинутий пагін виявився життєздатним, то інші пагони не аналізують. Якщо ж головний пагін нежиттєздатний, аналізують другий, а у випадку його пошкодження - послідовні пагони. Ступінь пошкодження рослин виражають у відсотках до загальної кількості їх в пробі.

Результати дослідів записують в таблицю.

Варіант	Стан конуса наростання головного пагона		Кількість живих, %	Оцінка стану посівів
	живі, шт	пошкоджені, шт		

На основі досліджень роблять висновок про життєздатність озимих.

Робота 58. **Визначення жиростійкості рослин (за Ф. Ф. Мацковим).**

Матеріали і обладнання: 1) свіжі листки яких-небудь рослин; 2) 0,2Н розчин НСІ; 3) водяна баня; 4) термометр; 5) пінцет; 6) чашки Петрі (5 шт); 7) склянки з водою; 8) олівець по склу.

Жаростійкість - це здатність рослин витримувати дію високих температур. За цією ознакою рослинні організми умовно поділяють на три групи:

- 1) термофільні, які переносять без ушкоджень температуру 75-90 °С (синьо-зелені водорості і термофільні бактерії);
- 2) жаровитривалі – витримують температуру до 54 °С (ксилофіти) і до 60 °С (сукуленти);
- 3) нежаростійкі – мезофітні і водні рослини, що витримують температуру до 40 °С.

Даний метод визначення жаростійкості рослин оснований на тому, що коли 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.

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, відбираючи проби через кожні 10 хв при підвищенні температури на 10°С.

Замінивши воду в чашках 0,2N розчином соляної кислоти, 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 за температури, °C				
	40	50	60	70	80

Роблять висновок про ступінь жаростійкості досліджуваних рослин.

Робота 59. **Визначення стійкості злаків до вилягання за анатомічною будовою стебла.**

Матеріали і обладнання: 1) два-три сорти рослин пшениці, що відрізняються за стійкістю до вилягання; 2) лезо бритви; 3) 1 %-ний розчин сафраніну; 4) окуляр-мікрометр; 5) мікроскоп; 6) предметні і накривні скельця.

Вилягання значно знижує врожайність зернових культур. В природній обстановці виляганню передують поступово наростаючі несприятливі зміни анатомо-морфологічного і фізіологічного порядку. Співставлення морфологічних і анатомічних характеристик рослини при виляганні дозволяє виявити міру реакції рослини на умови вирощування. Для прогнозу стійкості рослин до вилягання визначають щільність механічних тканин стійких і нестійких до вилягання сортів.

Хід роботи. У двох-трьох сортів, що відрізняються за стійкістю до вилягання, роблять поперечні зрізи з нижньої частини двох перших міжвузлів головного стебла у фазі воскової або молочної стиглості. На предметному склі препарати забарвлюють 1%-ним розчином сафраніну. За допомогою окуляр-мікрометра (при окулярі 10 і об'єктиві 8) вимірюють товщину виповненої частини стебла, товщину склеренхімного кільця і підраховують кількість рядів клітин, з яких складається склеренхімне кільце, кількість судинно-волокнистих пучків в паренхімі і склеренхімі.

Результати дослідів записують в таблицю:

Сорт	Товщина стебла, мм	Товщина склеренхімного кільця, мкм	Кількість рядів клітин склеренхіми	Кількість судинно-волокнистих пучків в склеренхімі	Кількість судинно-волокнистих пучків в паренхімі

Роблять висновки про стійкість сортів озимої пшениці до вилягання.

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. Найважливіші типи порушення метаболічних процесів в рослинах.

4. Порушення нуклеїнового обміну і активності ферментів під впливом абіотичних і біотичних факторів середовища.
5. Холодостійкість рослин.
6. Фізіолого-біохімічні зміни теплолюбних рослин при зниженні плюсових температур.
7. Засоби підвищення холодостійкості рослин.
8. Морозостійкість рослин.
9. Порушення в клітинах і тканинах, що відбуваються при їх заморожуванні.
10. Загартування рослин до мінусових температур, його фази. Зворотність процесів загартування.
11. Засоби підвищення морозостійкості озимих культур.
12. Зимостійкість. Фізіолого-біохімічні порушення в рослинах при випріванні, випиранні, вимоканні і при утворенні льодяної кірки.
13. Засоби підвищення зимостійкості озимих культур.
14. Вплив на рослину надлишку води. Фактори стійкості рослин проти затоплення.
15. Вилягання рослин, його причини і способи попередження.
16. Жаростійкість рослин. Зміни в обміні речовин, росту і розвитку рослин при дії максимальних температур.
17. Засоби підвищення жаростійкості рослин.
18. Посухостійкість рослин. Особливості водообміну у ксеро- і мезофітів. Засоби підвищення посухостійкості рослин.
19. Критичні періоди в розвитку рослин по відношенню до дії високих температур і нестачі води.

Список рекомендованої літератури:

1. Злобін Ю.А. Курс фізіології і біохімії рослин. – Суми: "Університетська книга", 2004. – 463 с.
2. Власенко М.Ю., Вельямінова-Зернова Л.Д. Фізіологія рослин. – Б.Церква, 1999. – 303 с.
3. Макрушин М.М. та ін. Фізіологія сільськогосподарських рослин з основами біохімії / Макрушин М.М., Макрушина М.В., Петерсон Н.В., Цибулько В.С. / К.: Урожай, 1995. – 352 с.
4. Лебедев С.И. Физиология растений. – М.: Колос, 1988. – 544 с.
5. Либберт Э. Физиология растений. – М.: Колос, 1988. – 544 с.
6. Плешков Б.П. Биохимия сельскохозяйственных растений. – М.: Агропромиздат, 1987. – 493 с.
7. Векірчик К.М. Фізіологія рослин (практикум). – К.: Вища школа, 1984. – 239 с.
8. Практикум по физиологии растений под редакцией Н.Н. Третьякова. – М.: Колос, 1982. – 271 с.

ВИГОТОВЛЕННЯ РОЗЧИНІВ

Для аналізів використовують водні розчини речовин (реактивів). Склад розчинів виражають концентрацією або частиною розчиненої речовини в певній масі чи об'ємі розчину. Залежно від їх призначення розрізняють:

—*розчини з наближеною концентрацією (робочі розчини)*, в яких вміст розчиненої речовини дано в частках (масових чи об'ємних) або у відсотках (відсоткова концентрація) чи вказано масову концентрацію (г/л);

—*розчини з точною концентрацією (титровані розчини)*, склад яких виражається кількістю моль розчиненої речовини в певному об'ємі розчину (молярна концентрація), кількістю еквівалентних мас розчиненої речовини в певному об'ємі розчину (еквівалентна або нормальна концентрація), числом грамів розчиненої речовини в 1 мл розчину (титр).

Титр — це маса розчиненої речовини в 1 мл розчину ($T = \text{г/мл}$ або $T = \text{г/см}^3$). Наприклад, якщо титр розчину хлороводневої кислоти дорівнює 0,0023, то це означає, що в одному мілілітрі цього розчину міститься 0,0023 г HCl. Обчислюють його розділивши наважку розчиненої речовини в 1 л розчину на 1000 мл.

Молярна концентрація — це відношення кількості розчиненої речовини (в молях) до об'єму розчину. Якщо об'єм 1 л, то молярна концентрація чисельно дорівнює кількості моль речовини в 1 л розчину.

$$C = \frac{v}{V} \times n = \frac{m \text{ речовини}}{M}, \text{ де}$$

V — кількість речовини в молях;

m — маса розчиненої речовини;

M — молярна маса;

v — об'єм розчину, л.

Одиницею молярної концентрації є моль/л.

Молярна концентрація позначається літерою M. Наприклад,

1 M — одномолярний розчин;

2 M — двомолярний розчин;

0,1 M — децимолярний розчин;

0,2 — дводецимолярний розчин

0,01 M — сантимольярний розчин;

0,002 — двомілімолярний розчин.

Якщо концентрація розчинів виражається числом еквівалентів (еквівалентних мас) в 1 л розчину, то така концентрація називається *молярною концентрацією еквівалента* (еквівалентна, або застарілий термін "нормальна"). Вона дорівнює молярній концентрації розчину розділеній на фактор еквівалентності:

$$C = \frac{v/V}{f}$$

Еквівалентна маса — це маса речовини, що відповідає одному моль атомарного водню, або 0,5 моль атомарного кисню.

Еквівалентну масу будь-якої речовини (x) можна виразити формулою:

$$\frac{M(x)}{f}$$

де, $M(x)$ — молярна маса (г/моль);

f — фактор еквівалентності.

Еквівалентні маси кислоти, основи, солі:

$$\text{кислоти } \frac{M}{f} = \frac{M(\text{кислоти})}{\text{число моль атомів водню}};$$

$$\text{наприклад, } \frac{M(\text{H}_3\text{PO}_4)}{3} = \frac{98 \text{ г/моль}}{3} = 32,6 \text{ г/моль};$$

$$\text{основи } \frac{M}{f} = \frac{M(\text{основи})}{\text{число гідроксильних груп}};$$

$$\text{наприклад, } \frac{M(\text{Ca}(\text{OH})_2)}{2} = \frac{74 \text{ г/моль}}{2} = 37 \text{ г/моль};$$

$$\text{солі } \frac{M}{f} = \frac{M(\text{солі})}{\text{добуток ступеню окислення металу і числа його атомів}};$$

$$\text{наприклад, } \frac{M(\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3)}{6} = \frac{342 \text{ г/моль}}{6} = 57 \text{ г/моль};$$

Отже, молярну концентрацію еквівалента (нормальну) можна також виразити в моль/л з урахуванням фактора еквівалентності.

Приклад 1. Обчислити молярну концентрацію еквівалента розчину ортофосфатної кислоти, в 100 мл якого розчинено 3,27 г H_3PO_4 .

$$C\left(\frac{\text{H}_3\text{PO}_4}{3}\right) = \frac{m}{M \cdot f \cdot v} \cdot 1000 \text{ мл} = \frac{3,27 \text{ г}}{98 \text{ г/моль} \cdot 3 \cdot 100 \text{ мл}} \cdot 1000 \text{ мл} = 0,1112 \text{ моль/л}$$

Приклад 2. Приготувати розчин сульфату натрію, молярна концентрація якого дорівнює 3 моль/л. Записується так $C(\frac{1}{2}\text{Na}_2\text{SO}_4) = 3$ моль/л. Запис $(\frac{1}{2}\text{H}_2\text{SO}_4)$ означає, що для розрахунку береться не цілий моль H_2SO_4 , а тільки половина.

Отже, щоб приготувати розчин, в якому молярна концентрація еквівалента $C(\frac{1}{2}\text{Na}_2\text{SO}_4) = 3$ моль/л, потрібно взяти 1,5 моль Na_2SO_4 ($m = (132 \times 1,5 \text{ моль})$) помістити в мірну колбу на 1 л і довести до мітки дистильованою водою.

В лабораторній практиці молярну концентрацію еквівалента часто називають застарілим терміном "нормальна концентрація", і позначають літерою "н". Наприклад, 1н — одинормальний розчин; 0,1 н — десятинормальний розчин. Ці позначення як і поняття "грам-еквівалент" виключені із системи СІ, але ще зустрічаються в науковій літературі.

Масова концентрація розчиненої речовини — це фізична величина, що визначається відношенням розчиненої речовини до об'єму розчину:

$$\rho = \frac{m \text{ речовини (г)}}{m \text{ розчину (л)}}$$

З цієї формули видно, що одиницею виміру масової концентрації розчиненої речовини є г/л, а в системі СІ кг/м³.

Молярна і масові концентрації пов'язані співвідношенням:

$$\rho = \frac{m \text{ речовини}}{m \text{ розчину}} = \frac{v \text{ речовини}}{V \text{ розчину}} \cdot \frac{M \text{ речовини}}{M \text{ речовини}} = C \text{ речовини} \cdot \frac{M \text{ речовини}}{M \text{ речовини}}$$

Масова концентрація речовини позначається тією ж літерою, що й густина — ρ (ро). При розрахунку масової концентрації речовини в однокомпонентній системі (тобто чистої речовини) ці поняття (масова концентрація і "густина розчину" співпадають).

Відсоткова концентрація— це відношення маси розчиненої речовини до маси розчину і позначається літерою ω % (омега):

$$\omega = \frac{m \text{ речовини}}{m \text{ розчину}} \times 100\%$$

Чисельно відсоткова концентрація — це маса розчиненої речовини в 100 г розчину.

ВИГОТОВЛЕННЯ РОЗЧИНІВ ВІДСОТКОВОЇ КОНЦЕНТРАЦІЇ З ТВЕРДИХ РЕЧОВИН

Наприклад. Потрібно приготувати 60 г 10%-го розчину NaCl. Маса хлориду натрію розраховується за пропорцією:
в 100 г розчину міститься 10 г NaCl;

в 60 г — x г NaCl ; Звідси, $X = \frac{60 \times 10}{100} = 6 \text{ г}$.

Отже, щоб приготувати 60 г 10%-го розчину потрібно взяти 6 г NaCl і $(60 - 6) = 54$ г води.

При таких обчисленнях необхідно враховувати ступінь чистоти і склад речовини, розчин якої потрібно виготовити. Якщо речовина містить домішки, або кристалізаційну воду, то слід розраховувати масу часток речовини.

Наприклад, щоб приготувати 200 г 10%-го розчину NaCl з реактиву, який містить 5% домішок, потрібно попередньо провести розрахунок:

1. Обчислити масу чистого NaCl, потрібного для приготування 200 г 10%-го розчину.

в 100 г розчину — 10 г NaCl

в 200 г розчину — m г NaCl Звідси, $m = \frac{200 \times 10}{100} = 20 \text{ г}$.

2. Обчислити масу NaCl з 5 % вмістом домішок:

20 г NaCl — 95%

m г — 100%/ Звідси, $m = \frac{20 \times 100}{95} = 21,0526 \text{ г}$.

3. Маса води (200-21,05) = 178,95 г або (178,95 мл).

Отже, щоб виготовити 200 г 10% розчину NaCl, що містить 5 % домішок необхідно взяти 21,05 NaCl і розчинити в 178,95 мл дистильованої води.

При приготуванні розчинів з кристалогідратів (речовин, що містять хімічно зв'язану кристалізаційну воду) необхідно розрахувати масу безводної солі за формулами кристалогідрату і безводної солі.

Наприклад, щоб приготувати 500 г 10% - го розчину сульфату міді з мідного купоросу $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ потрібно:

1. Обчислити молярну масу CuSO_4 в 500 г розчину:

500 – 100 %;

x г – 10 %; Звідси, $x = \frac{500 \times 10}{100} = 50 \text{ г}$.

2. Обчислити молярну масу $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$

$M(\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}) = 159,72 + 90 = 249,72 \text{ г/моль}$.

3. Знайти масу $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$, в якій міститься 10 г CuSO_4 за пропорцією:

в 249,72 г $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ міститься 159,72 г CuSO_4

в x г $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ — 50 г CuSO_4

Звідси, $x = \frac{249,72 \times 50}{159,72} = 78 \text{ г}$.

4. Визначити масу води (500 — 78) = 422 г.

Отже, щоб приготувати 500 г 10%-го розчину CuSO_4 потрібно 78 г $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ розчинити в 422 мл води, виходячи з того, що густина води 1 г/мл.

ВИГОТОВЛЕННЯ РОЗЧИНІВ ВІДСОТКОВОЇ КОНЦЕНТРАЦІЇ З РІДИН

При виготовленні розчинів відсоткової концентрації з рідин, необхідно враховувати не тільки їх концентрацію, а і густину розчину і густину рідини, з якої готують розчин. Зумовлено це тим, що рідини краще не зважувати, а вимірювати їх об'єм.

Наприклад. Щоб приготувати 1 л 20%-го розчину сульфатної кислоти з концентрованою 96%-го розчину H_2SO_4 потрібно:

1.3 довідникових таблиць відповідності густини і концентрації знаходимо, що 20%-ий розчин має густину 1,143; 96 % має густину — 1,840.

2. Обчислити масу H_2SO_4 в 1 л 20%-го розчину:

m (1л) = 1000 мл \times 1,143 г/мл = 1143 г.

За пропорцією:

в 100 г розчину — 20 H₂SO₄;

в 1143 г розчину — x г H₂SO₄; Звідси, $x = \frac{20 \times 1143}{100} = 228,6 \text{ г. H}_2\text{SO}_4$

3. Обчислити масу 96%-го розчину, в якій міститься 228,6 г H₂SO₄.
228,6 г H₂SO₄—96%;

x (г) H₂SO₄ — 100% ; Звідси $x = \frac{228,6 \times 100}{96} = 238,125 \text{ г.}$

Тоді об'єм концентрованого 96 %-го розчину H₂SO₄ становитиме:

$$V = \frac{m}{\rho} = \frac{238,125}{1,84} = 129,415 \text{ мл}$$

Цей об'єм рідини перенести, обережно помішуючи, в мірну колбу на 1 л, в яку попередньо налито 500-600 мл дистильованої води. Долити водою до мітки за нижнім меніском. Після повного охолодження часто доводиться додати ще кілька крапель води і перемішати розчин в колбі.

Для зручності в практиці користуються даними таблиці 1.

1. Необхідна кількість найвищих концентрованих розчинів кислот і аміаку, яку потрібно взяти для виготовлення 1 л розчину різної концентрації

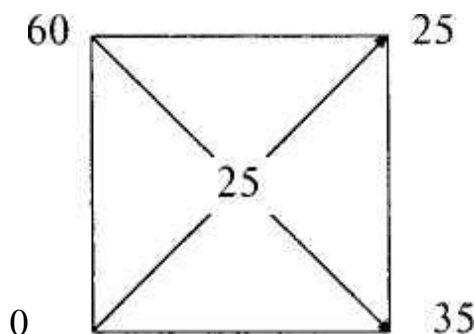
Вихідна речовина	Питома маса	Концентрація розчину у відсотках					
		25	20	10	5	2	1
Хлоридна кислота	1,19	635	497	237	115,5	45,5	23
Азотна кислота	1,40	313	244	115	56	22	11
Сульфатна кислота	1,84	168	130	61	29	11,6	6
Оцтова кислота	1,05	248	197	97	48	19	9,5
Водний розчин аміаку	0,91	Без розведення	814	422	215	97	44

Якщо концентрація рідини, з якої готують розчин з меншою концентрацією невідома, то її знаходять в довідковій таблиці за густиною. Густина рідини визначають ареометром. Для цього в циліндр потрібно налити досліджувану рідину, опустити в неї ареометр, щоб не торкався стінок і не рухався. Показ ареометра береться за нижнім меніском.

Найбільш зручним розрахунком при виготовленні розчинів є встановлення масових і об'ємних співвідношень змішуваних розчинів різних концентрацій або розчину і води за правилом діагоналей (правило хреста).

Ним користуються при виготовленні розчинів з наближеною концентрацією (відсотковою, молярною, еквівалентною). Записи ведуться в такому порядку: в лівому верхньому куті уявного квадрата записують вищу концентрацію вихідного розчину, а в лівому нижньому куті — нижчу концентрацію, або концентрацію води, тобто 0. На перетині діагоналей квадрата — концентрацію розчину, який потрібно приготувати. По діагоналі віднімають від більшого числа менше і результат записують справа. Одержана різниця показує зменшення концентрації більш концентрованого розчину і збільшення — менш концентрованого при їх змішуванні. Відношення чисел справа — це співвідношення мас змішуваних розчинів (відсоткова концентрація), або об'ємів (молярна, еквівалентна концентрації), потрібних для одержання розчину даної концентрації.

Наприклад, потрібно виготовити 25%-ий розчин із 60% -го розчину сульфатної кислоти. Записи ведуть в такому порядку: в лівому верхньому куті записують концентрацію вихідного — 60% розчину, а на перетині діагоналей квадрата — розчину, який потрібно приготувати (25 %); в лівому нижньому куті — концентрацію води, тобто 0.



Віднімають по діагоналі від більшого числа менше і записують в куті, де закінчилась діагональ. Тобто від 60 віднімають 25 і результат (35) записують у правому нижньому куті від 25 віднімають 0 і результат записують у верхньому правому куті (25). Одержані числа це масові частини кислоти і води.

Отже, щоб виготовити 25%-ий розчин з 60%-ого розчину сульфатної кислоти потрібно взяти 25 масових частин 60%-ої H_2SO_4 і 35 масових частин дистильованої води.

Часто вказують розбавлення співвідношенням 1:1, 1:2 або 1:5 тощо. Перша цифра показує об'єм концентрованої кислоти, або аміаку, друга — об'єм води, взятої для розведення.

РЕЦЕПТИ ПРИГОТУВАННЯ ДЕЯКИХ РОЗЧИНІВ І РЕАКТИВІВ

1. РЕАКТИВ МІЛОНА

Ртуть розчиняється в сильній азотній кислоті (в однаковій кількості). Одержаний розчин розчиняється водою в однакових об'ємах, тобто на один об'єм розчину ртуті - один об'єм води.

Реактив готується під витяжкою.

2. РІДИНА ФЕЛІНГА (по Сокслету).

Готують два розчини, які зберігаються окремо і тільки перед дослідом змішують в однакових об'ємах.

1-й розчин: 34,64 г $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, розчинити в 250 мл дистильованої води (в мірній колбі на 500 мл). Після розчинення долити до риски і перемішати. Всього розчину буде 500 мл.

2-й розчин: сегнетова сіль (виннокислий калій натрій $\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_8\text{KNa}$ з їдким натром).

173 г сегнетової солі і 51,6 г їдкого натрію розчинити спочатку в 250 мл дистильованої води (в мірній колбі на 500 мл), а потім долити до риски і добре перемішати.

3. РІДИНА ФЕЛІНГА (по Пастеру)

1) В 500 мл дистильованої води розчиняється 130,0 г їдкого натрію, 105,0 г винної кислоти на 80 г їдкого калію.

2) В 300 мл дистильованої води розчиняється 40,0 г мідного купоросу.

Після розчинення і охолодження розчини змішуються і доповнюються до 1 л. Ця рідина не портиться на світлі і використовується для якісних реакцій на моносахариди.

4. РОЗЧИН ЙОДУ В ЙОДИСТОМУ КАЛІЮ (J в KJ)

2 г йодистого калію розчиняють в 5 мл води, потім добавляють 1 г металічного йоду, коли останній розчиниться, доливають 295 мл дистильованої води.

Розчин зберігати в темній склянці.

5. БАРИТОВА ВОДА.

На 1 л розчину беруть 7-10 г їдкого барію. Розчиняють його в 100 мл дистильованої води (при слабкому нагріванні) Потім швидко вливають в літрову пляшку, в якій налито 900 мл дистильованої води, щільно закупорюють і протягом 10-15 хв збовтують. Це збовтування повторюють 10-15 раз протягом доби. Потім, коли розчин відстоїться, з допомогою сифона обережно переливають в другу пляшку (краще такого ж об'єму). Сифонні трубки повинні бути щільно вставлені в пробки пляшки, а не

прямо в горло. В іншому випадку, внаслідок стикання з вуглекислою повітря, розчин буде мутніти.

Для досліду з кількісним розрахунком (по диханню) потрібно приготувати концентрованіші розчини, але не більше 14 г на літр.

6. *ФУКСИН (основний).*

Приготовляється насичений розчин фуксину в спирту (96%). Із нього приготують спиртові розчини, які використовуються для забарвлення. Спиртовий розчин готується додаванням 10-20 мл насиченого розчину на 100 мл води. Забарвлення йде 3-4 хвилини.

7. *ХРОМОВА СУМІШ ДЛЯ МИТТЯ ПОСУДИ*

В 100 мл концентрованої сірчаної кислоти розчиняють 50 г біхромату калію і отриманий розчин вливають в 1000 мл дистильованої води.

КОНЦЕНТРАЦІЇ РОЗЧИНІВ

Процентні розчини – такі розчини, в яких концентрація визначається кількістю речовини в грамах, що міститься в 100 г розчину.

Молярні розчини – розчини, в 1 л яких міститься певна кількість молів речовини. Так, одномолярні (1М) розчини містять 1 грам-моль речовини в 1 л розчину, двомолярні (2М) – 2 грам-моля в 1 л і т.д. Грам-молекулою речовини називається кількість її, виражена в грамах і рівна її молекулярній масі. Наприклад, молекулярна маса NaCl дорівнює 58,45, тому грам-молекула NaCl дорівнює 58,45 г.

Нормальні розчини – такі розчини, в 1 л яких міститься грам-еквівалент розчиненої речовини. Грам-еквівалентом називається кількість речовини, виражена в грамах, яка в даній реакції відповідає (еквівалентно) 1 грам-іону водню (1,008 г), що приймається за одиницю. Грам-еквівалент кислот дорівнює молекулярній масі, поділеній на основність кислоти. Грам-еквівалент основ дорівнює молекулярній масі, поділеній на валентність металу. Грам-еквівалент солей дорівнює молекулярній масі, поділеній на суму валентностей всіх іонів металу. Грам-еквівалент речовини, що бере участь в окислювально-відновній реакції дорівнює молекулярній масі цієї речовини, поділеній на число перехідних електронів.

Титровані розчини – такі розчини, концентрації яких виражаються титром, тобто кількістю розчиненої речовини в грамах, що міститься в 1 мл розчину.

Концентрація і густина концентрованих кислот і аміаку

Речовина	М	Концент- рація , %	Моляр на концен- трація, моль/л	К-сть, необхідна для приготуванн я 1 л 1М розчину, мл	Густи на
Оцтова кислота	60,05	99,6	17,4	57,5	1,05
Аміак	17,03	25	13,3	75,1	0,91
		35	18,1	55,2	0,88
Мурашина кислота	46,03	90	23,6	42,4	1,205
		98	25,9	38,5	1,22
Соляна кислота	36,46	36	11,6	85,9	1,18
		63,01	70	15,7	63,7

Азотна кислота	100,4	60	9,2	108,8	1,54
Хлорна кислота	6	72	12,2	82,1	1,70
		85	14,7	67,8	1,70
Фосфорна кислота	98,00	98	18,3	54,5	1,835
Сірчана кислота	98,00				