

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ДЕРЖАВНИЙ ВИЩИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД
«УЖГОРОДСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ»
Географічний факультет кафедра лісівництва

**МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ ДО ВИКОНАННЯ
ЛАБОРАТОРНИХ РОБІТ
з дисципліни “ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН”
(для бакалаврів спеціальності 205 -Лісове господарство)**

Ужгород – 2021

УДК 581.1

Методичні рекомендації до виконання лабораторних робіт з дисципліни “Фізіологія рослин” (для бакалаврів спеціальності 205-Лісове господарство)/Уклад. Смужаниця Я.В.- Ужгород: УжНУ, 2021. –98 с.

Укладач: Смужаниця Я.В. старший викладач кафедри лісівництва;

Рецензент: Мірутенко В.В. доцент кафедри ентомології та збереження біорізноманіття

Рекомендовано до друку методичною комісією географічного факультету ДВНЗ «Ужгородський національний університет» Протокол № 4 від «02» лютого 2021 року

ЗМІСТ

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Розділ 1. Фізіологія рослинної клітини | 5 |
| робота 1. Порівняльна здатність проникності плазмалеми і тонопласта..... | 8 |
| робота 2. Визначення ізоелектричної точки (іет) рослинних тканин.. | 10 |
| робота 3. Плазмоліз і деплазмоліз у рослинних клітинах | 13 |
| робота 4. Ковпачковий плазмоліз..... | 16 |
| робота 5. Визначення структурної в'язкості протоплазми плазмолітичним методом | 18 |
| робота 6 визначення в'язкості цитоплазми рослин методом центрифугування..... | 20 |
| робота 7. Визначення осмотичного потенціалу клітинного соку плазмолітичним методом | 22 |
| робота 8. Визначення сисної сили тканин за зміною концентрації розчину (за методом шардакова)..... | 25 |
| робота 9. Вплив деяких факторів на швидкість руху цитоплазми в клітинах | 28 |
| контрольні запитання та завдання до розділу «фізіологія рослинної клітини»..... | 31 |
| розділ 2. Водний режим рослин | 33 |
| робота 10. Визначення кількості води та сухої речовини у рослинах різних екологічних груп..... | 35 |
| робота 11. Визначення інтенсивності транспірації та відносної транспірації ваговим методом..... | 36 |
| робота 12. Визначення інтенсивності транспірації у різних екологічних груп рослин (за івановим)..... | 39 |
| робота 13. Спостереження за динамікою транспірації на гілках деревних рослин впродовж дня..... | 41 |
| робота 14. Визначення відносної активності води в рослині..... | 42 |
| робота 15. Визначення водоутримної..... | 44 |
| здатності рослин (за арландом) | 44 |
| робота 16. Визначення водного дефіциту рослин | 46 |
| робота 17. Визначення полуденного та залишкового водних дефіцитів | 48 |
| робота 18. Визначення швидкості втрати води під час в'янення рослин з різними морфо-фізіологічними ознаками | 51 |

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| контрольні запитання до розділу „водний режим рослин” | 52 |
| розділ 3. Кореневе живлення рослин..... | 54 |
| робота 19. Визначення вмісту золи у різних органах рослин..... | 55 |
| робота 20. Мікрохімічний аналіз золи..... | 58 |
| робота 21. Визначення в золі макроі мікроелементів | 63 |
| робота 23. Вирощування рослин методом водної культури з вилученням деяких поживних елементів..... | 72 |
| робота 24. Визначення об’єму кореневої системи методом д. А. Сабініна та і. І. Колосова | 75 |
| робота 25. Визначення загальної, робочої і неробочої адсорбційної поверхні кореневої системи | 78 |
| робота 26. Виявлення антагоністичного впливу йонів на ріст і розвиток рослин | 82 |
| контрольні запитання та завдання до розділу «кореневе живлення рослин»..... | 84 |
| розділ 7. Ріст і розвиток рослин..... | 86 |
| робота 27. Виявлення зон росту коренів і стебел методом позначок . | 86 |
| робота 28. Виявлення впливу індолілоцтової кислоти (іок) на ріст відрізків колеоптилів вівса | 88 |
| робота 29. Вплив індолілоцтової кислоти на ризогенез (укорінення) живців | 90 |
| робота 30. Апікальне домінування у рослин..... | 91 |
| робота 31. Вплив етилену на ростові процеси у рослин | 92 |
| робота 32. Спостереження за фототропічною реакцією рослини | 94 |
| робота 33. Спостереження за геотропічною реакцією рослини..... | 95 |
| контрольні запитання та завдання до розділу “ріст і розвиток рослин” | 97 |
| література:..... | 98 |

РОЗДІЛ 1. ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИННОЇ КЛІТИНИ

Клітина – елементарна структурно-функціональна одиниця рослинного організму. Вона здатна до самовідтворення і характеризується специфічними особливостями, які відрізняють її від клітин тваринного походження (наявністю добре розвинутої целюлозної оболонки, пластид, вакуолярної системи, специфічним ростом розтягненням).

Різноманітні функції клітин здійснюються спеціалізованими внутрішньоклітинними структурами – органелами. У зв'язку з їх мікроскопічними й субмікроскопічними розмірами, надзвичайною чутливістю до впливів навколишнього середовища, збереженням нативних властивостей лише у цілій життєдіяльній клітині дослідження фізіології органел і функціонального стану самої клітини є надзвичайно складними в методичному й технічному відношеннях і такі роботи в практикумі не розглядатимуться.

Важлива характерна ознака рослинної клітини – наявність *вакуолі*, яка відмежована від цитоплазми одношаровою мембраною – тонопластом. Це компартмент, у якому міститься водний розчин мінеральних речовин, цукрів, органічних кислот, амінокислот тощо. Саме концентрацією розчинених речовин і відповідно осмотичним потенціалом вакуолярного соку, оточеного напівпроникною мембраною, визначається здатність клітин поглинати воду з навколишнього середовища. Крім того, вакуоля притискає цитоплазму клітини з розташованими в ній пластидами до клітинної стінки, сприяючи тим самим успішнішому перебігу процесу фотосинтезу. Вакуоля сприяє також створенню тургорного стану клітини, за якого її вміст насичений водою тисне на клітинну стінку. В стані повного насичення клітини водою тургорний протитиск повністю зрівноважує осмотичний, і клітина припиняє поглинати воду. Найбільшу сисну силу клітина має якщо повністю відсутній тургор. У цей момент здатність клітини поглинати воду визначається її осмотичним потенціалом. Рушійною силою надходження води в клітину є різниця хімічних потенціалів води в клітині та навколишньому середовищі. Хімічний потенціал чистої води завжди більший за її хімічний потенціал в розчині (клітині). Чим вища концентрація сполук усередині клітини, тим менший хімічний потенціал внутрішньоклітинної води і тим

швидше вода надходить в клітину.

Осмотичний рух води в клітину відбувається пасивно, без енергетичних затрат. Мінеральні ж елементи здебільшого надходять крізь клітинні мембрани проти електрохімічного градієнта активно, за допомогою специфічних білків-переносників і з затратою енергії АТФ. Завдяки добре розвиненій системі внутрішніх мембран і плазмалеми в клітинах підтримується відповідний йонний склад вакуолярного розчину і цитоплазми, що визначає статус клітини як колоїдно-осмотичної системи. Мембранний принцип будови протопласта реалізується в різноманітних проявах осмотичних властивостей нативних клітин. Зокрема, на цьому базуються принципи практичних робіт вивчення явищ плазмолізу й деплазмолізу, визначення осмотичного тиску клітинного соку, проникності живих і ушкоджених мембран тощо. Більшість із цих робіт мають діагностичне й прикладне значення, зокрема для первинної оцінки фізіологічного стану рослин в умовах відкритого та закритого ґрунту.

Частина робіт присвячено вивченню структурно-функціональних властивостей живого вмісту клітини. Так, встановлення порівняльної здатності до проникності плазмалеми й тонопласту, впливу деяких йонів на в'язкість цитоплазми, тестування ступеня ушкодження тканин за зміною проникності мембран використовують для лабораторно-польових методів діагностики стану рослинних організмів за умов дії на них несприятливих факторів середовища. Досить інформативними й показовими є роботи щодо вивчення процесів і явищ, зумовлених властивостями й результатами сумісної діяльності вакуолей і цитоплазматичного вмісту рослинних клітин. Практичні аспекти цих робіт теж не викликають сумніву.

У процесі еволюції у клітинах усіх живих організмів вироблений механізм типового неспецифічного реагування – загальна неспецифічна реакція на ушкоджуючу дію, проявом якої є однотипні зміни: зменшення дисперсності колоїдів цитоплазми, збільшення спорідненості цитоплазми і ядра до низки барвників, зміна клітинної проникності, підвищення кислотності цитоплазми, зміна здатності до гранулоутворення. Згідно денатураційної теорії всі ці прояви неспецифічної реакції зумовлені зворотною денатурацією протеїнів, які є складовою протоплазми клітин.

Сьогодні більшість положень денатураційної теорії уточнені та конкретизовані з позицій сучасних досягнень біології. З'ясовано, що неспецифічна відповідь клітин на пошкоджуючий агент зумовлена загальними для них особливостями структурно-функціональної організації.

По-перше, нерівномірність просторового розподілу низькомолекулярних органічних сполук: цукрів, амінокислот, нуклеотидів, жирних кислот по всій клітині (компаратменталізація). По-друге – неспецифічне інгібування біологічної активності макромолекул низькомолекулярними клітинними субстратами. Зсув рівноваги між активним транспортуванням низькомолекулярних сполук та їхньою дифузиею, який спричинює декомпартменталізацію клітинних субстратів та інгібування ними метаболізму – основні фактори, які зумовлюють неспецифічну реакцію клітини.

У відповідь на дію модельного токсиканту в клітині відбувається комплекс змін, які характеризують її загальну неспецифічну реакцію. Деякі з них можна вимірювати і, завдяки цьому, використовувати як маркери на дію токсичних речовин. Це, насамперед, зміни в'язкості цитоплазми та проникності мембран, зсув йонного балансу, бубнявіння хлоропластів, зменшення дисперсності колоїдів цитоплазми, зміна форми клітини, збільшення спорідненості цитоплазми й ядра клітини до низки барвників, зміна процесу грануловідкладання вітальних барвників і дифузного забарвлення протоплазми.

За цими неспецифічними реакціями клітини, що легко рееструються під мікроскопом, можна робити висновок про стан їхньої життєдіяльності та про пошкодження в його початковій оборотній фазі. Вони мають суттєве значення в цитоекологічних дослідженнях.

Встановлення характеру цих змін дає змогу зробити відповідні висновки про резистентність клітин, органів або організмів до несприятливих умов довкілля і вести цілеспрямований пошук умов або прийомів, які б сприяли підвищенню стійкості і продуктивності досліджуваних об'єктів.

Роботи цього розділу створюють теоретичну й практичну основу для ефективного виконання завдань і засвоєння матеріалу наступного розділу – вивчення водного режиму рослин.

РОБОТА 1. ПОРІВНЯЛЬНА ЗДАТНІСТЬ ПРОНИКНОСТІ ПЛАЗМАЛЕМИ І ТОНОПЛАСТА¹

Транспортування йонів крізь мембрану може бути *пасивним* і *активним*. *Пасивне транспортування* (неспецифічна дифузія CO₂ та O₂, пори, канали, везикулярне транспортування) відбувається без витрат метаболічної енергії за градієнтом даної речовини. Рушійною силою пасивного транспортування йонів крізь мембрану є *електрохімічний потенціал*. *Активне транспортування* – це процес перенесення молекул або йонів крізь мембрану проти електрохімічного градієнта поєднаний з використанням енергії. Транспорт заряджених гідратованих йонів полегшують спеціальні транспортні білки: *канали*, *білки-переносники (портери)* і *насоси (помпи)*.

Канали – це трансмембранні білки, здатні відкриватися і закриватися внаслідок конформаційних змін білка. Видовжені молекули білків каналів мають заряд і заповнені водою. Канали пропускають йони вибірково, залежно від їхнього заряду і розміру гідратної оболонки. Через канали здійснюється, головним чином, пасивний транспорт. Швидкість дифузії через відкритий канал дуже велика – 10⁶ йонів за секунду. Зараз встановлена наявність каналів для K⁺, Ca²⁺, Cl та води (*аквапоріни*).

Білки-переносники спочатку приєднують до себе на певне місце речовину, яку вони переносять, а потім, дифундують разом із нею крізь мембрану. Процес транспортування закінчується, коли перенесена речовина від'єднується від переносника і він повертається у початкове положення. Білки-переносники переносять 10⁴ ÷ 10⁵ йонів за секунду, тобто вони працюють значно повільніше, ніж канали. Транспортування за допомогою переносників може бути пасивним і активним. *Пасивне транспортування* за допомогою білків-переносників називають *полегшеною дифузією*. При полегшеній дифузії, як і при простій дифузії, напрямок руху залежить від концентраційного градієнта (для

¹ Ця та наступні роботи згідно навчального посібника Фізіологія рослин: практикум / О.В. Войцехівська, та ін., 2010

незаряджених молекул) або від електрохімічного градієнта (для іонів).

Мембранні білки, пов'язані з активним транспортуванням, називаються *насосами*, тому що за їх роботи йони рухаються з одного боку мембрани на протилежний проти електрохімічного градієнту. Насоси переносять Na^+ , Ca^{2+} , K^+ та H^+ . Активне транспортування чутливе до кисню та метаболічних отрут і слугує для накопичення речовин, концентрація яких назовні незначна, або для видалення речовин, якщо в клітині вони знаходиться у незначній концентрації. Активне транспортування здійснюється за рахунок енергії АТФ, або енергії окисно-відновних реакцій, яка виділяється у ланцюгу перенесення електронів у мітохондріях та хлоропластах. На сьогодні досить детально вивчені такі насоси як H^+ -АТФази і Ca^{2+} -АТФази.

Щоб охарактеризувати функціональний стан клітини і її осмотичні властивості, використовують порівняльну здатність до проникності клітинних мембран – плазмалеми і тонопласта.

Зовнішня цитоплазматична мембрана – плазмалема має вищу проникність, ніж тонопласт. У цьому можна переконатися, спостерігаючи набрякання цитоплазми під впливом іонів калію, що в ній накопичуються.

Мета роботи. Виявлення плазмалеми і тонопласта в рослинній клітині та вивчення їхньої проникності.

Матеріали, реактиви, обладнання. Цибуля ріпчаста; 1 М розчин KNO_3 , розчин еозину (50 мг в 100 мл); мікроскопи, предметні стекла та накривні скельця.

Хід роботи.

1. Нанести на предметне скло велику краплину 1 М розчину KNO_3 з розчином еозину і помістити в неї 2÷3 шматочки епідерми внутрішньої (угнутої) сторони луски цибулі. Накрити скельцем і спостерігати в клітинах розвиток ковпачкового плазмолізу.

Примітка. Спочатку цитоплазма оточує вакуолю тонким шаром. Пізніше цитоплазматичний шар набрякає, істотно потовщується (особливо з протилежних боків вакуолі) у вигляді

ковпачків і забарвлюється еозином в оранжевий колір. Згодом цитоплазма відмирає від надлишку прониклих у неї іонів калію, внаслідок чого крізь плазмалему легко проникає еозин.

На препараті видно, що забарвлюється лише цитоплазма. Вакуоля залишається безбарвною, що свідчить про різну проникну здатність плазмалеми і тонопласта. Тонoplast зберігає свої напівпроникні властивості.

2. Описати досліджувані реакції і зарисувати клітини до і після досліду.
3. Зробити висновки.

Контрольні запитання та завдання

1. Які особливості транспортування іонів крізь напівпроникні мембрани?
2. Схарактеризуйте транспортні білки локалізовані у мембрані.
3. Що є рушійною силою активного і пасивного транспортування іонів?
4. Що таке полегшена дифузія?
5. Що є джерелом енергії для активного транспортування іонів?
6. Що свідчить про різну проникність іонів калію крізь плазмалему і тонопласт?
7. Поясніть, що зумовлює набрякання цитоплазми.
8. Який фізіологічний сенс різної проникності плазмалеми і тонопласта?

РОБОТА 2. ВИЗНАЧЕННЯ ІЗОЕЛЕКТРИЧНОЇ ТОЧКИ (ІЕТ) РОСЛИННИХ ТКАНИН

Амінокислоти і білки цитоплазми – це так звані амфотерні сполуки. В розчині вони можуть дисоціювати як кислоти та основи. За високої концентрації H^+ кислотна дисоціація пригнічена і білок (амінокислота) набуває позитивного заряду і, навпаки, за підвищеної концентрації OH^- білок (амінокислота) набуває

негативного заряду.

За відповідної величини рН середовища дисоціація пригнічена однаково, і амфоліт стає електронейтральним. Таке значення рН середовища називають *ізоелектричною точкою (IET)*. Значення її у кожного білка різне та залежить від співвідношення вільних карбоксильних і амінних груп. Так, наприклад, для казеїну, желатину, альбуміну величина рН *IET* 4,6÷4,7; для протаміну – 10÷12. Якщо *IET* білків відома, можна зробити висновок про співвідношення в їх складі кислих і основних амінокислот.

Якщо дисоціація амфоліту відбувається за типом основи (в середовищах із рН нижче *IET*), то позитивний заряд зв'язує аніони, а якщо за типом кислоти (в середовищах із рН вище *IET*), то від'ємний заряд зв'язує катіони.

Для визначення IET використовують барвник еозин, аніон якого має рожеве забарвлення, та метиленовий синій, колір якого зумовлений катіоном.

Амфоліти клітини зв'язують еозин або метиленовий синій залежно від їхнього заряду і набувають рожевого або синього забарвлення, а у разі перебування амфоліту в *IET* забарвлення його буде проміжним – фіолетовим. Залежність адсорбції йонів барвника від рН середовища можна визначити також графічно, якщо на горизонтальній вісі відкладати величину рН зовнішнього розчину, а по вертикалі – кількість адсорбованого барвника.

Мета роботи. Визначити *IET* у рослинах кореня гороху або кукурудзи залежно від вмісту в них води.

Матеріали, реактиви, обладнання. Дослідні рослини; 70 %-й етиловий спирт, 0,1 %-й розчин еозину, 0,002 %-й розчин метиленового синього, 0,1 М розчин лимонної кислоти, 0,2 М розчин Na_2HPO_4 ; піпетки, мікроскопи, предметні стекла та накривні скельця, чашки Петрі.

Хід роботи.

1. Приготувати по 10 мл буферних розчинів (табл. 1.3).
2. На відстані 0,5 см від кінчика кореня з рослин, що вирощувались за різної вологості субстрату, лезом зробити поперечні зрізи і занурити їх на 5 хв. у 70 %-й спирт.

- В одну чашку Петрі налити 2÷3 мл 0,1 %-го розчину еозину, а в іншу – 2÷3 мл 0,002 %-го метиленового синього.

Таблиця 1.3. Схема приготування буферних розчинів з рН 2,2÷8,0

| Номер пробірки | рН | 0,2 М Na_2HPO_4 | 0,1 М лимонна кислота |
|----------------|-----|---------------------------------|-----------------------|
| 1 | 2,2 | 0,2 | 9,8 |
| 2 | 3,0 | 2,1 | 7,9 |
| 3 | 3,6 | 3,2 | 6,8 |
| 4 | 5,0 | 5,1 | 4,8 |
| 5 | 5,4 | 5,6 | 4,4 |
| 6 | 6,0 | 6,3 | 3,7 |
| 7 | 7,0 | 8,2 | 1,8 |
| 8 | 8,0 | 9,7 | 0,3 |

- Зі спирту зрізи спочатку перенести в еозин на 10 хв., а потім (не промиваючи) на 10 хв. у метиленовий синій.
- Зафарбовані у синій колір зрізи перенести у розчини з різним рН і експонувати їх впродовж 60÷120 хв.
- Зрізи вийняти з розчинів, розкласти на предметному склі та розглянути під мікроскопом за малого збільшення.

Примітка. У розчинах з рН нижче IET забарвлення тканин буде рожевим, за рН вище IET – синім. Перехідне забарвлення розчину (фіолетове) вказує на те, що рН зовнішнього розчину відповідає IET тканини. IET кори та провідної тканини буде різною, що свідчить про неоднорідний склад цитоплазми в клітинах тканин.

- Зробити висновки.

Контрольні запитання та завдання

- Що таке IET рослинної тканини?
- З якою метою вивчають IET тканин?
- Чи може величина IET свідчити про направленість процесів життєдіяльності?
- Якого забарвлення набувають флоемні елементи кореня?
- Чи забарвлюватимуться ксилемні елементи кореня?
- Чи потрібна фіксація рослинної клітини при визначенні IET?

РОБОТА 3. ПЛАЗМОЛІЗ І ДЕПЛАЗМОЛІЗ У РОСЛИННИХ КЛІТИНАХ

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

Плазмоліз найкраще спостерігати у рослин із забарвленим клітинним соком, оскільки сама цитоплазма безбарвна. Тому для роботи краще використовувати епідерму синьозабарвлених лусок цибулі, червоної капусти, традесканції, листки елодеї та валіснерії. За певних умов освітлення препарату та стану цитоплазми на початковій фазі плазмолізу можна спостерігати її тоненькі тяжі, що тягнуться від поверхні протопласта до пор в оболонці. Це так звані *плазмодесмові нитки* (нитки Хехта), які свідчать про в'язкість та еластичність цитоплазми. Залежно від цього виникають різні форми плазмолізу: кутовий, увігнутий, опуклий, судомний, ковпачковий (рис. 1.1).

На форму плазмолізу впливають також йони плазмолітика. Так, йони калію зменшують, а йони кальцію підвищують в'язкість цитоплазми. Інколи навіть у суміжних клітинах спостерігаються різні форми плазмолізу, що свідчить про їхню неоднорідність.

Важливо, що здатність клітини до плазмолізу є достовірним показником її життєздатності та структурно-функціональної

цілісності. За повільного плазмолізу клітини тривалий час залишаються живими. За наявності доступної для клітини води вони легко відновлюють стан тургору. Тривалий плазмоліз зумовлює загибель клітин. Явище плазмолізу використовують для визначення осмотичного потенціалу, в'язкості цитоплазми, проникності клітинних мембран тощо.

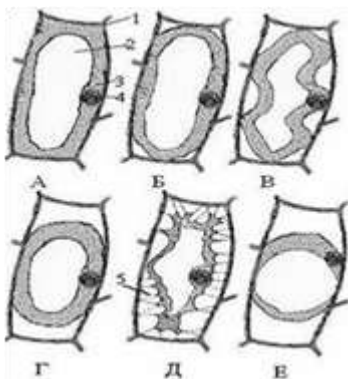


Рис. 1.1. Різні форми плазмолізу в клітинах епідерми цибулі:

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

Мета роботи. Ознайомитися з явищем плазмолізу та деплазмолізу, визначити потрібні для цього умови, а також значення цих явищ у процесах життєдіяльності рослинних клітин.

Матеріали, реактиви, обладнання. Цибуля синя або листки інших рослинних об'єктів; 1 М розчини плазмолітиків (NaCl або сахарози) у крапельницях; скальпелі, препарувальні голки, мікроскопи, предметні стекла та накривні скельця, скляні палички, стаканчики з водою, фільтрувальний папір, пінцети.

Хід роботи.

1. З опуклої частини луски цибулі або листка традесканції

зняти пінцетом шматочки забарвленої епідерми і швидко покласти у краплину відстояної водогігнівої води нанесену на предметне скло та накрити накривним скельцем.

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

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

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

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

5. Зарисувати різні форми плазмолізу та деплазмолізу кількох клітин.

6. Зробити висновки.

Контрольні запитання та завдання

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

РОБОТА 4. КОВПАЧКОВИЙ ПЛАЗМОЛІЗ

Рослинна клітина проявляє властивості осмотичної системи. Функцію напівпроникної оболонки виконують цитоплазматичні мембрани (*плазмалема* і *тонопласт*), а осмотично активного розчину – клітинний сік.

Якщо живі рослинні клітини експонувати у розчинах осмотично активних речовин різної концентрації (кожен з яких має певну величину осмотичного тиску), то їх реакція буде неоднаковою. Розчини, осмотичний тиск яких менший за осмотичний тиск клітинного соку, називають *гіпотонічними*. Якщо осмотичний тиск розчину більший за осмотичний тиск клітинного соку, то він *гіпертонічний*. Коли осмотичний тиск розчину дорівнюватиме осмотичному тискові клітинного соку, то його називають *ізотонічним*.

У разі занурення клітин у гіпертонічний розчин, з клітинного соку в середовище надходитиме вода до вирівнювання осмотичних тисків розчину і клітинного соку. Внаслідок втрати води об'єм протопласта зменшується, він перестає тиснути на клітинну стінку, втрачається тургор, цитоплазма скорочується, ущільнюється – спостерігається явище плазмолізу.

Коли протопласт починає відділятися від клітинної стінки по кутах клітини спостерігається *початковий* або *кутовий* плазмоліз, коли в багатьох місцях – *увігнутий*, коли протопласт повністю відділяється від клітинної стінки – *опуклий* плазмоліз. Форма плазмолізу залежить також від в'язкості протоплазми та проникності її шарів.

Ковпачковий плазмоліз відбувається під дією катіонів і аніонів солей, які проникають крізь плазмалему в мезоплазму. Крізь тонопласт ці солі майже не проникають, або проникають дуже повільно. Накопичуючись у мезоплазмі, катіони солей зумовлюють її набухання, в результаті чого утворюються ковпачки на кінцях плазмолізованої цитоплазми (ковпачковий плазмоліз).

Мета роботи. З'ясувати причини виникнення ковпачкового плазмолізу.

Матеріали, реактиви, обладнання. Синя цибуля; 1 н. розчини

KNO_3 , $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, CaCl_2 ; мікроскопи, предметні стекла та накривні скельця, пінцети, препарувальні голки, скляні бюкси або годинникові стекла, піпетки.

Хід роботи.

1. Шматочки забарвленої епідерми синьої цибулі покласти на 30÷60 хв. у скляні бюкси з 1 н. розчином KNO_3 .

2. Розглянути препарат під мікроскопом у краплині цього самого розчину.

Примітка. У багатьох клітинах спостерігають ковпачковий плазмоліз. На обох полюсах видно набрякту цитоплазму, що нагадує ковпачки. Ядро також істотно збільшується в об'ємі. Це явище зумовлене проникненням іонів K^+ , NO_3^- крізь плазмалему в мезоплазму. На препараті видно, що плазмалема і тонопласт відрізняються чіткими рівними контурами.

3. Відповідно до п.1 дослід провести і з розчином $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$.

Примітка. Плазмоліз не відбувається, бо йони кальцію діють на клітину протилежно йонам калію.

4. Клітини з ковпачковим плазмолізом перенести до 1 н. розчину CaCl_2 .

Примітка. Спостерігають перетворення ковпачкового плазмолізу на звичайний опуклий плазмоліз.

5. Зробити висновки.

Контрольні запитання та завдання

1. Чому в плазмолізованому протопласті утворюються ковпачки?

2. Яка з мембран більш проникна – плазмалема чи тонопласт?

3. Що таке плазмоліз, чому він виникає?

4. Чи здатні до плазмолізу мертві клітини?

5. Які розчини називають гіпер-, гіпота ізотонічними?

6. Які типи плазмолізу Вам відомі?

РОБОТА 5. ВИЗНАЧЕННЯ СТРУКТУРНОЇ В'ЯЗКОСТІ ПРОТОПЛАЗМИ ПЛАЗМОЛІТИЧНИМ МЕТОДОМ

В'язкістю називають властиву для рідин здатність чинити опір переміщенню одних її часток щодо інших. Вона зумовлена тертям між молекулами під час їхнього руху. На відміну від звичайних рідин, протоплазмі властива структурна в'язкість, тобто існування певної внутрішньої структури і взаємної орієнтації складових компонентів. Згідно даних А. Фрей-Вісслінга, протоплазма одночасно має ознаки рідини (текучість) і твердого тіла (еластичність), що проявляється в безперервній зміні сил зчеплення між біоколоїдами. Відповідно протоплазма періодично стає або рідшою (*золь*), або густішою (*гель*). Ця властивість тісно пов'язана з процесами життєдіяльності клітини та її біохімічною активністю.

Про в'язкість протоплазми роблять висновок за часом, який пройшов із моменту занурення клітин у гіпертонічний розчин до появи опуклої форми плазмолізу. Чим більший цей час, тим вища в'язкість протоплазми. Незважаючи на недосконалість методу його широко використовують для первинної оцінки різних впливів на структуру протоплазми.

Мета роботи. Виявити мінливість в'язкості протоплазми залежно від типу та віку клітин.

Матеріали, реактиви, обладнання. Гілочки елодеї; 0,6 М розчин сахарози; мікроскоп, предметні стекла та накривні скельця, лека бритви, препарувальні голки, пінцети.

Хід роботи.

Примітка. Роботу зручно проводити з молодими листочками елодеї, оскільки у них чітко розрізняються чотири зони: в основі міститься зона поділу клітин (слабко забарвлена), вище зони поділу розташована зона розтягнення, ще вище – зона диференціації, а зелена верхівка листка складається зі старих клітин, які закінчили ріст.

1. Із верхівкової частини гілочки елодеї відібрати кілька

листочків, що мають світло-зелену основу й інтенсивне зелене забарвлення у верхній частині. Занурити їх у краплину розчину сахарози на предметному склі і накрити накривним скельцем. Записати час початку досліду.

2. Кожні п'ять хвилин відмічати зміни, які відбуваються в клітинах. Визначити час плазмолізу, звертаючи увагу на швидкість процесу у різновікових клітинах елодеї.

3. Результати спостережень записати у таблицю 1.4.

Таблиця 1.4. Виявлення мінливості в'язкості протоплазми залежно від типу та віку клітин

| Об'єкт дослідження | Плазмоліз (час експозиції/форма плазмолізу) | | | | | | | |
|--------------------|---------------------------------------------|--------|-------|------|-------|------|-------|------|
| | 5 хв. | | 10 | | 15 | | 20 | |
| | увігнути | опукли | увігн | опук | увігн | опук | увігн | опук |
| Основа листка | | | | | | | | |
| Зона розтягнення | | | | | | | | |
| Зона диференціації | | | | | | | | |
| Верхівка листка | | | | | | | | |

4. Зробити висновки про залежність в'язкості протоплазми від віку клітин.

Контрольні запитання та завдання

1. Що таке в'язкість рідини?
2. Який вид в'язкості характерний для цитоплазми?
3. Яке значення має в'язкість цитоплазми в житті клітини?
4. Від чого залежить в'язкість цитоплазми?

РОБОТА 6 ВИЗНАЧЕННЯ В'ЯЗКОСТІ ЦИТОПЛАЗМИ РОСЛИН МЕТОДОМ ЦЕНТРИФУГУВАННЯ

Однією з важливих фізико-хімічних властивостей цитоплазми є в'язкість. На відміну від в'язкості звичайних рідин в'язкість цитоплазми зумовлена внутрішньою організацією всіх її складових частин, її ультраструктурою. Опір, який чинять рухові частинок лабільні елементи структури рідини, називають *структурною в'язкістю*. В'язкість цитоплазми легко змінюється під впливом зовнішніх факторів: температури, вологості, мінерального живлення тощо. За нею можна робити висновок про ступінь стійкості колоїдів цитоплазми. Йони кальцію й алюмінію підвищують в'язкість цитоплазми, а йони калію, навпаки, збільшуючи дисперсність колоїдів цитоплазми, зменшують її в'язкість.

В'язкість цитоплазми має велике значення для виживання рослин в умовах високих температур і дефіциту вологи у довкіллі. Особливого значення вона набуває для гідрофітів під час тимчасового пересихання водойм.

В'язкість цитоплазми залежить від зовнішніх і внутрішніх факторів, віку, фази онтогенезу, характеру екоотопу тощо. Її визначають різними способами. Одним із них є метод *центрифугування*. В основу цього методу покладено рівняння Стокса. За цим рівнянням швидкість падіння кульки (за сталого радіуса) обернено пропорційна в'язкості рідини. Мірою структурної в'язкості цитоплазми може бути та мінімальна величина відцентрового прискорення в одиницях g , за якою центрифугування протягом $10 \div 20$ хв. зумовлює зміщення хлоропластів у 50 % клітин.

Відцентрове прискорення визначають за відношенням відцентрової сили до сили тяжіння:

$$C = \frac{(2\pi N)^2 r}{g}$$

де N – кількість обертів центрифуги за секунду;
 r – радіус центрифуги;

q – прискорення сили тяжіння (981 см/с^2).

Для порівняння дослідів визначають відносну в'язкість цитоплазми. Мірою її може бути кількість обертів центрифуги, яка потрібна для однакового зміщення хлоропластів. У навчальних лабораторіях для цього зручно використовувати малогабаритні центрифуги ЦУМ-1 або ЦЛН-2.

Мета роботи. Визначити в'язкість цитоплазми в листках водних рослин за дії різних температур методом центрифугування.

Матеріали, реактиви, обладнання. Водні рослини – елодея, наяда, валіснерія; етиловий спирт з кількома краплинами концентрованої оцтової кислоти, ефір; склянки з водою, мікроскопи, предметні стекла та накривні скельця, леза, пінцети, препарувальні голки, піпетки, пробірки, малогабаритна центрифуга, центрифужні пробірки.

Хід роботи.

1. Декілька листочків елодеї, наяди і валіснерії покласти на 30 хв. у склянки з водою і помістити: перші – в холодильник за температури 2°C , другі – в термостат за температури 30°C , а треті залишити за кімнатної температури.

2. У центрифужні пробірки налити воду, покласти по 4÷5 листочків і центрифугувати протягом 10 хв. за різних швидкостей: 1000, 2000 і 3000 об/хв.

3. Після центрифугування листочки швидко перенести у фіксуючу рідину (як фіксатор можна використовувати етиловий спирт з кількома краплинами концентрованої оцтової кислоти), промити водою і розглянути під мікроскопом.

4. У листочках, де в результаті центрифугування в полі зору мікроскопа відбувається зміщення хлоропластів у 50 % клітин, обчислити структурну в'язкість цитоплазми.

5. Листочки знову помістити на 10 хв. у пробірки з водним розчином ефіру, і ще раз центрифугувати протягом 15 хв.

Примітка. Під дією ефіру цитоплазма відмирає, при цьому її в'язкість різко знижується, що виявляється у дуже швидкому переміщенні хлоропластів.

6. З отриманих результатів обчислити середні показники та

записати їх у таблицю 1.5.

7. Зробити висновки про вплив температури на структурну в'язкість цитоплазми різних видів водних рослин.

Контрольні запитання та завдання

1. Що таке структурна в'язкість?
2. Як пояснити неоднакову в'язкість протоплазми у молодих і старих клітинах листків рослин?

Таблиця 1.5. Визначення структурної в'язкості цитоплазми в листках водних рослин за дії різних температур

| Варіант досліджу | Час плазмолізу, хв. | Зміщення хлоропластів після 10-хвилинного центрифугування, % | | | Структурна в'язкість |
|-----------------------------------|---------------------|--------------------------------------------------------------|--------------|--------------|----------------------|
| | | 1000 об./хв. | 2000 об./хв. | 3000 об./хв. | |
| Температура, °С: 2 кімнатна | | | | | |

3. Як змінюється в'язкість цитоплазми в онтогенезі рослин?
4. Які фактори довкілля впливають на в'язкість цитоплазми клітин?

РОБОТА 7. ВИЗНАЧЕННЯ ОСМОТИЧНОГО ПОТЕНЦІАЛУ КЛІТИННОГО СОКУ ПЛАЗМОЛІТИЧНИМ МЕТОДОМ

Концентрацію клітинного соку, який є розчином різноманітних органічних і неорганічних сполук, можна визначити за його осмотичним потенціалом. *Плазмолітичний метод* визначення цього важливого цитофізіологічного показника полягає в тому, що зрізи рослинних тканин занурюють у розчини осмолітика різної

концентрації і згодом досліджують їх під мікроскопом для визначення концентрації ізотонічного розчину.

Оскільки плазмоліз відбувається лише в гіпертонічних розчинах, знаходять таку концентрацію, за якої початкова стадія плазмолізу спостерігається не менше ніж у 50 % клітин досліджуваної тканини. Концентрація ізотонічного розчину обчислюється як середнє арифметичне між концентрацією гіперта гіпотонічного розчинів.

Мета роботи. Визначення величини осмотичного тиску у рослин різних екологічних груп.

Матеріали, реактиви, обладнання. Листки елодеї, традесканції, луски синьої цибулі, капусти; 1 М розчин NaCl або сахарози, дистильована вода; піпетки, пробірки, олівці по склу, леза, фільтрувальний папір, мікроскопи, предметні стекла та накривні скельця, препарувальні голки.

Хід роботи.

1. Приготувати по 5 мл розчинів NaCl або сахарози різних концентрацій від 0,1 до 0,7 моль/л змішуванням відповідних об'ємів вихідного 1 М розчину і води (табл. 1.6).

Примітка. Розчини зберігають у пронумерованих маленьких баночках, пробірках, інших зручних посудинах.

2. Безпечним лезом виготовити 14 тонких зрізів із опуклої сторони луски синьої цибулі, з листків червоноголової капусти або інших об'єктів досліджень.

3. Зрізи пензликом перенести на 1÷2 хв. в охолоджену кип'ячену воду для видалення бульбашок повітря і поступово, з інтервалом 2÷3 хв., занурити у розчини плазмолітика різної концентрації та експонувати їх протягом 20÷30 хв.

4. Роздивитися зрізи під мікроскопом.

Примітка. На предметне скло замість води наносити краплину розчину відповідного плазмолітика, в якому експонувався препарат.

5. Послідовно роздивитися препарати з усіх розчинів, встановити, за якої концентрації помітно початкову стадію плазмолізу (гіпертонічний розчин плазмолітика), а за якої – не помітно (гіпотонічний розчин плазмолітика). Результати записати у таблицю 1.6 значками «+» та «-» .

Таблиця 1.6. Визначення ізотонічної концентрації розчину плазмолітичним методом

| Концентрація плазмолітика, моль/л | Ступінь плазмолізу | Для приготування 5 мл розчину | |
|-----------------------------------|--------------------|-------------------------------|----------|
| | | 1 М сахароза, мл | вода, мл |
| 0,1 | | 0,5 | 4,5 |
| 0,2 | | 1,0 | 4,0 |
| 0,3 | | 1,5 | 3,5 |
| 0,4 | | 2,0 | 3,0 |
| 0,5 | | 2,5 | 2,5 |
| 0,6 | | 3,0 | 2,0 |
| 0,7 | | 3,5 | 1,5 |

Примітка. Зрізи, які виймають з кип'яченої води доцільно промокнути клаптиком фільтрувального паперу.

6. Визначити величину ізотонічної концентрації розчину (середнє між гіпота гіпертонічною концентрацією), обчислити осмотичний тиск клітинного соку за рівнянням Вант-Гоффа:

$$P = RTCi,$$

де P – осмотичний тиск, в мегапаскалях, МПа; R – універсальна газова стала, $8,317 \cdot 10^{-3}$ Дж/(кМоль·К); T – абсолютна температура, $273^{\circ} + t$ °С (К); C – концентрація розчину, моль/л; i – ізотонічний коефіцієнт. Для неелектролітів (сахарози) $i = 1$, а для розчинів електролітів (наприклад, NaCl) він має такі значення (табл. 1.7).

Таблиця 1.7. Значення ізотонічного коефіцієнта (i) для розчину NaCl

| | | | | | | | | |
|---------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| Концентрація NaCl, моль/л | 1,0 | 0,8 | 0,7 | 0,6 | 0,5 | 0,4 | 0,3 | 0,2 |
| Ізотонічний коефіцієнт | 1,62 | 1,64 | 1,66 | 1,68 | 1,70 | 1,75 | 1,78 | 1,83 |

7. Зробити висновки.

Контрольні запитання та завдання

1. Чому осмотичний тиск розчинів електролітів більший ніж розчинів неелектролітів?

2. Чи можна визначити концентрацію клітинного соку плазмолітичним методом?

3. Чи можна відібрати воду від плазмолізованої клітини?

На чому ґрунтується плазмолітичний метод визначення осмотичного потенціалу?

РОБОТА 8. ВИЗНАЧЕННЯ СИСНОЇ СИЛИ ТКАНИН ЗА ЗМІНОЮ КОНЦЕНТРАЦІЇ РОЗЧИНУ (ЗА МЕТОДОМ ШАРДАКОВА)

Сисна сила – це сила з якою вода надходить у клітину. Сисна сила (S) обчислюється як різниця між осмотичним (P) і тургорним (T) тиском ($S = P - T$). Якщо осмотичний тиск більший ніж тургорний, клітина поглинатиме воду. За умов повного насичення клітини водою її тургорний тиск дорівнює осмотичному і тому сисна сила дорівнює нулю. Це спостерігається за високої вологості ґрунту і повітря. Сисна сила за абсолютною величиною дорівнює величині водного потенціалу клітини, але протилежна за знаком.

Якщо рослинну тканину занурити у розчин, осмотичний тиск якого менше сисної сили тканини, то клітини її поглинатимуть воду з розчину. В результаті цього концентрація розчину зростає. Навпаки, коли тканину помістити у гіпертонічний розчин, то він відбиратиме воду з клітин і буде менш концентрованим.

Відомо, що густина і показник заломлення розчинів залежать від їхньої концентрації. Використовуючи цю властивість розчинів, легко визначити найменші зміни їх концентрацій. Отже, можна зробити висновок щодо величини сисної сили тканин порівняно із сисною силою розчинів відомої концентрації, куди були занурені шматочки тканин.

Мета роботи. Ознайомитися зі станом клітин у гіпотагіпертонічному розчинах і визначити величину осмотичної сили досліджуваних рослинних тканин.

Матеріали, реактиви, обладнання. Листки кімнатних рослин, бульби, коренеплоди, вирощені за різних умов; 0,5 М розчин CaCl_2 або 1 М розчин сахарози, метиленовий синій; дворядні штативи з пробірками, свердла, препарувальні голки, мікропіпетки або піпетки Пастера.

Хід роботи.

1. З вихідного 0,5 М розчину CaCl_2 приготувати серію розчинів менших концентрацій: 0,01; 0,03; 0,05; 0,07; 0,09; 0,11; 0,13; 0,15 М (по 10 мл у кожній пробірці).

Примітка. При використанні розчину сахарози концентрації розчинів мають бути приблизно вдвічі більші.

2. Пробірки з розчинами CaCl_2 поставити у перший ряд штатива. З кожної із них набрати по 0,5 мл розчину і перенести у менші пробірки другого ряду штатива, закрити корками для запобігання випаровування.

3. Свердлом (діаметром $0,8 \div 1,0$ см) вирізати диски з досліджуваних об'єктів (листки пеларгонії, примули, бегонії, пластинки коренеплодів тощо). У кожену пробірку другого ряду занурити по два диски тканини на 30 хв.

Примітка. Вміст пробірок впродовж експонування рослинних тканин періодично струшують.

4. Диски вийняти з розчинів (препарувальними голками), розчини підфарбувати метиленовим синім (мокрый кінчик голки занурити в порошок барвника і розбовтати в пробірці).

5. Мікропіпеткою об'ємом 0,5 мл або тонкою скляною трубочкою з відтягнутим кінцем набрати забарвлений розчин із першої пробірки другого ряду і опустити її до середини прозорого розчину відповідної пробірки першого ряду і повільно випустити забарвлену рідину, поступово піднімаючи піпетку.

Примітка. На білому фоні спостерігають, в якому напрямку у безбарвному розчині рухається струмок забарвленої рідини.

Якщо концентрація i , отже, питома густина розчину після перебування в ньому тканини виявиться більшою, ніж у відповідного безбарвного розчину у вищій пробірці, то струмок буде опускатися вниз у вигляді блакитного згустку.

Якщо ж забарвлений розчин матиме меншу концентрацію i меншу питому густина, то блакитний струмок буде підніматися вгору.

Таку маніпуляцію виконують з усіма парами розчинів у відповідних пробірках, позначаючи напрямок руху струмків. У зв'язку з тим, що кожна пара пробірок першого і другого ряду містила спочатку розчини однакової концентрації, тому за зміною концентрації розчинів у пробірках другого ряду можна визначити, з яких розчинів тканина поглинала воду, а в які віддавала її.

6. Визначити концентрацію ізотонічного розчину, тобто розчин концентрація якого не змінилась після перебування в ньому досліджуваного об'єкта.

7. Дані записати у таблицю 1.8 і розрахувати величину осмотичної сили в атмосферах.

Таблиця 1.8. Визначення ізотонічної концентрації за напрямом руху струменя забарвленої рідини.

| | | | | | | | | |
|-------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| Концентрація розчину, М | 0,01 | 0,03 | 0,05 | 0,07 | 0,09 | 0,11 | 0,13 | 0,15 |
| Напрямок руху струменя | | | | | | | | |

Примітка. Величина осмотичного потенціалу визначеного ізотонічного розчину для досліджуваної тканини у цьому разі збігається з величиною осмотичної сили.

$$S = P$$

Величину P визначають за формулою:

$$P = RTCi,$$

де P – осмотичний тиск, МПа; R – універсальна газова стала, $8,317 \cdot 10^{-3}$ Дж/(кМоль·К); T – абсолютна температура, $273^\circ + t$ °С (К); C – концентрація розчину, моль/л; i ізотонічний коефіцієнт, який визначають за формулою $i = 1 + a(n-1)$, де a – ступінь дисоціації

речовини (табл.1.9); n кількість йонів, на які дисоціює молекула (для CaCl_2 – це 3, для неелектролітів $n = 1$).

Таблиця 1.9. Значення ступеня дисоціації (α) для розчинів CaCl_2 різної концентрації

| | | | | | | | | |
|------------------------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| Концентрація розчину CaCl_2 (М) | 0,01 | 0,03 | 0,05 | 0,07 | 0,09 | 0,11 | 0,13 | 0,15 |
| Ступінь дисоціації (α) | 0,90 | 0,86 | 0,82 | 0,79 | 0,76 | 0,73 | 0,72 | 0,71 |

8. Зробити висновки.

Контрольні запитання та завдання

1. Що таке сисна сила клітин? Від яких факторів залежить її величина?
2. За якою формулою і в яких одиницях визначають сисну силу клітин?
3. Чому під час використання розчинів сахарози замість CaCl_2 концентрації їх мають бути вдвічі більші?
4. Для чого розчини зафарбовують у малих пробірках другого ряду?
5. На якому фізичному явищі базується можливість спостереження напрямку руху струмків?
6. Які фактори впливають на точність досліду?

РОБОТА 9. ВПЛИВ ДЕЯКИХ ФАКТОРІВ НА ШВИДКІСТЬ РУХУ ЦИТОПЛАЗМИ В КЛІТИНАХ

Рух цитоплазми – поширене і цікаве явище, яке легко виявити в життєдіяльних клітинах. Біологічне значення цього явища полягає в тому, що здійснюється перенесення речовин з однієї частини клітини до іншої, забезпечується їх поглинання й виділення, відбувається внутрішньоклітинне переміщення органел тощо. При цьому топографія органел і їх просторове положення у клітинах,

яке зумовлене рухом цитоплазми, визначають і створюють найоптимальніші умови їхнього функціонування.

Швидкість та характер руху цитоплазми залежать від впливу багатьох зовнішніх і внутрішніх факторів. Доведено, зокрема, що 10 різних хімічних речовин у фізіологічно діючих концентраціях прискорюють або пригнічують рух цитоплазми. Цей процес залежить від температури, рН, ступеня обводненості клітин тощо.

Джерелом енергії для руху цитоплазми є, як і для більшості інших фізіологічних процесів, аденозинтрифосфат (АТФ). Оскільки рушійна сила виникає в основній масі цитоплазми, де відбувається *гліколіз*, то цей процес є постачальником хімічної енергії, яка перетворюється на механічну.

Різні інгібітори і роз'єднувачі дихання (олігоміцин, 2,4-динітрофенол) гальмують швидкість руху цитоплазми, що свідчить про енергозалежність цього процесу. Рух цитоплазми – найдостовірніший показник життєдіяльності рослинної клітини.

Мета роботи. Виявити рух цитоплазми в живих рослинних клітинах, визначити його швидкість і встановити вплив на цей процес деяких факторів. Переконалися, що швидкість руху залежить від рівня життєдіяльності клітини і забезпечення її енергією.

Матеріали, реактиви, обладнання. Гілочки елодеї або листки валіснерії; $5 \cdot 10^{-3}$ М розчин АТФ, $5 \cdot 10^{-4}$ М розчин 2,4-динітрофенолу; мікроскопи з окуляр-мікрометрами, предметні стекла й накривні скельця, термостат, хімічні склянки місткістю 100 мл.

Хід роботи.

Дослід 1.

1. З верхівки пагону елодеї пінцетом відірвати листочок або відрізати частину молодого листка валіснерії та перенести у краплину акваріумної води на предметному склі.

2. За $5 \div 10$ хв., коли встановиться стаціонарний рівень руху цитоплазми, об'єкти розглянути за середнього збільшення та вибрати ділянку препарату, де найкраще спостерігати за її рухом (за зміною положення в клітинах хлоропластів).

Примітка. У елодеї такою зоною є видовжені клітини поблизу центральної жилки або клітини зубчиків по краю листка. Розміщують препарат на столику так, щоб довга вісь клітини була паралельна шкалі окуляр-мікрометра.

3. Поставити об'єктив $\times 40$ і визначити швидкість руху хлоропластів, вимірюючи шлях, на який переміщується органела за одиницю часу в полі зору мікроскопа.

Примітка. Для більшої точності вимірів бажано взяти довший відрізок шляху (наприклад, $10 \div 15$ поділок окулярмікрометра). Швидкість руху визначити для n 'яти пластид у n 'яти клітинах (для статистичної обробки).

Дослід 2.

1. З одного боку накривного скельця нанести краплину $5 \cdot 10^{-4}$ М розчину АТФ і одночасно відтягнути фільтрувальним папером воду з-під нього з другого боку. За $3 \div 5$ хв. після заміщення води на розчин АТФ повторити визначення швидкості руху хлоропластів.

2. Розчин АТФ під накривним скельцем замінити на $5 \cdot 10^{-4}$ М розчин 2,4-динітрофенолу (ДНФ) і через $3 \div 5$ хв. знову визначити швидкість руху хлоропластів.

Примітка. У цьому варіанті дослідів будуть вже інші результати.

3. Дані, отримані при визначенні швидкості руху цитоплазми за швидкістю переміщення в ній хлоропластів, записати у таблицю 1.10.

Таблиця 1.10. Вплив АТФ та 2,4-динітрофенолу (ДНФ) на швидкість руху цитоплазми клітин елодеї

| Варіант дослідів | Швидкість руху, мкм/с |
|------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| Н 0, 20 °С $5 \cdot 10^{-3}$ М АТФ $5 \cdot 10^{-4}$ М ДНФ | |

Примітка. За бажанням можна збільшити кількість варіантів дослідів, використовуючи розчини солей важких металів або

токсичних для гідробіонтів органічних сполук (детергентів, пестицидів, поверхнево-активних речовин та ін.).

Контрольні запитання та завдання

1. Як визначити швидкість руху цитоплазми в клітинах, що не мають хлоропластів?
2. Як зміниться рух цитоплазми у разі підвищення температури навколишнього середовища до 30 °С?
3. Яка залежність між швидкістю руху та в'язкістю цитоплазми?

КОНТРОЛЬНІ ЗАПИТАННЯ ТА ЗАВДАННЯ ДО РОЗДІЛУ «ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИННОЇ КЛІТИНИ»

1. Які експериментальні методи застосовують для вивчення структури і функції клітин?
2. Як хімічний склад цитоплазми позначається на фізіологічній діяльності клітини?
3. Як визначити початок плазмолізу?
4. Чи здійснюється міжклітинне транспортування під час плазмолізу?
5. Яка функція клітинної стінки в осмотичних процесах рослинних клітин?
6. Назвіть механізми внутрішньоклітинних рухів.
7. Чи можна використовувати колхіцин для припинення руху цитоплазми?
8. Перерахуйте загальні особливості будови та властивості всіх мембран клітини.
9. Як зумовити плазмоліз клітин, що мають осмотичний потенціал клітинного соку 5 атм.?
10. У яких рослин більший осмотичний тиск клітинного соку: у рослин засолених чи незасолених ґрунтів; гідрофітів чи ксерофітів?
11. Клітина з осмотичним тиском клітинного соку 1 МПа занурена в розчин КСІ₂, осмотичний тиск якого 2 МПа. Що відбувається з клітиною?
12. Шматочки однієї і тієї самої рослинної тканини занурені у

розчин 1М сахарози і 1М NaCl. У якому з цих розчинів плазмоліз більш виражений?

13. Як пояснити відсутність зворотної дифузії поглинутих клітинами барвників (метиленовий синій, нейтральний червоний).

14. Чому плазмолізовані в розчині сечовини клітини досить швидко деплазмолізуються?

15. Клітина занурена в дистильовану воду. Опишіть можливі варіанти переміщення води в цій системі.

16. Чому під час тривалих дощів соковиті плоди (вишні, черешні, абрикоси) розтріскуються?

17. Молярні розчини KCl і CaCl₂ розділені напівпроникною мембраною. Об'єм якого розчину збільшуватиметься?

18. Що відбуватиметься з клітиною, що має осмотичний потенціал клітинного соку 10 атм, якщо її занурити в ізотонічний розчин, а в гіпотонічний?

19. За допомогою яких цитофізіологічних реакцій можна діагностувати живі та мертві клітини?

РОЗДІЛ 2. ВОДНИЙ РЕЖИМ РОСЛИН

Серед хімічних сполук, що містяться в живих організмах, вода в кількісному відношенні відіграє домінуючу роль. Вміст її в клітинах з активними процесами життєдіяльності може досягати 70÷95 %. Зневоднення насіння, спор, лишайників супроводжується переходом їх від активної життєдіяльності в анабіотичний стан. Пояснюється це тим, що вода є не лише розчинником, а й активним структурним та функціональним компонентом клітини. Вона є субстратом для фотосинтезу, бере участь у метаболічних перетвореннях, диханні, численних гідролітичних і синтетичних процесах.

Клітина містить завжди мінімальну кількість води, нижче якої рослина вже не в змозі підтримувати нормальний перебіг біохімічних та фізіологічних функцій. Таку воду називають *гомеостатичною*. Вміст гомеостатичної води неоднаковий у рослин різних екологічних груп: у гідрофітів – 65÷70%; мезофітів – 45÷60%; ксерофітів – 25÷27% сирої маси. Значна кількість води в клітинах потрібна насамперед тому, що вона утворює внутрішнє середовище, в якому можливий перебіг життєвих процесів, адже лише у водному середовищі функціонально важливі біохімічні та структурні компоненти клітини здатні підтримувати свою нативність та функціональність.

Вода відіграє суттєву роль у створенні і підтриманні внутрішнього гідростатичного (тургорного) тиску, від якого залежить характерна форма рослинних клітин, тканин, органів та зовнішній вигляд рослин в цілому. У разі втрати тургору рослини в'януть.

З потоком води від кореневої системи в надземні органи надходять мінеральні речовини і деякі метаболіти, зокрема синтезовані в коренях амінокислоти й цитокініни.

Завдяки високій теплоємності та питомій теплоті пароутворення вода захищає організми від різких коливань температури і є запобіжним фактором від перегрівання.

Слід пам'ятати також і про таку важливу властивість води, як здатність різко збільшувати об'єм (на 11 %) під час замерзання і, так само різко, зменшувати його під час танення льоду, адже з цією властивістю води тісно пов'язана морозостійкість рослин.

Навіть короткотривала нестача води в рослині несприятливо

впливає на біохімічні та фізіологічні процеси. Після відновлення оптимальних умов водозабезпечення фотосинтез стабілізується лише через п'ять-шість днів, ріст через три-чотири тижні, що призводить до значних втрат врожаю. Тому оптимізація водопостачання рослини у змінних умовах навколишнього середовища має бути одним із головних завдань рослинництва.

Вода надходить в рослину в результаті дії законів *масового потоку, дифузії та осмосу*. Масовий потік, по суті є різницею потенціальної енергії води (водним потенціалом) у системі ґрунт–рослина–повітря. Пересування води по рослині, крім того, зумовлене дією сил *адгезії, когезії, капілярними силами* та метаболічними процесами. Саме завдяки перебігу метаболічних процесів формується *кореневий тиск* (його ще називають *нижнім кінцевим двигуном*), завдяки якому вода нагнітається догори по судинах ксилеми. Величина кореневого тиску становить 50÷150 кПа.

Робота *верхнього кінцевого двигуна* зумовлена випаровуванням води листками. Чим інтенсивніше транспірують рослини, тим більший створюється гідродинамічний натяг у судинах і капілярах, які зв'язують листок через стебло з кореневою системою.

Основну роль у випаровуванні води відіграють продихи (*продихова транспірація*). Крім того, вода може випаровуватися крізь кутикулу (*кутикулярна транспірація*) та крізь перидерму (*лентікулярна транспірація*).

Водний баланс рослини складається з надходження та витрачання води. У разі перевищення витрат води над надходженням виникає *водний дефіцит*, який може бути ліквідований у нічний період. Якщо ж протягом ночі дефіцит води повністю не усунений, то говорять про *залишковий водний дефіцит*.

Показником ефективності використання води рослинами є *транспіраційний коефіцієнт* – кількість води, що витрачається рослиною на створення одиниці сухої речовини.

Величину, обернену транспіраційному коефіцієнту, називають *продуктивністю транспірації*. Створюючи оптимальні умови вегетації, можна значно підвищити продуктивність рослин та ефективність використання ними поливної води.

РОБОТА 10. ВИЗНАЧЕННЯ КІЛЬКОСТІ ВОДИ ТА СУХОЇ РЕЧОВИНИ У РОСЛИНАХ РІЗНИХ ЕКОЛОГІЧНИХ ГРУП

Вміст води у рослинах змінюється в широких межах і залежить від віку, фізіологічного стану, хімічного складу рослин та впливу на них різноманітних факторів середовища. Саме тому, визначення загального вмісту води є, як правило, обов'язковим в різноманітних дослідженнях. Вміст води у рослинних тканинах вираховують в процентах від сирової маси.

Мета роботи. Визначити вміст води та сухої речовини у рослинах різних екологічних груп.

Матеріали, реактиви, обладнання. Дослідні рослини, сухе і проросле насіння різних видів; аналітичні ваги, бюкси, сушильні шафи, ексікатор, щипці, свердла (діаметр 5÷8 мм), шматочки гуми 5х5 см.

Хід роботи.

1. Вимити бюкси і висушити їх до постійної маси. Для цього відкриті бюкси витримати 60÷90 хв. в шафі за 100÷105 °С, потім охолодити їх в ексікаторі, закрити кришками і зважити на аналітичних терезах. Висушування і зважування бюксів повторюють доти, доки їх маса не стане сталою.

2. Рослинний матеріал відібрати за варіантами. Висічки з листків, зроблені свердлом у трикратній повторності, вмістити в бюкси і зважити на аналітичних терезах. Потім поставити відкритими в нагріту до 105 °С сушильну шафу на 5 год., охолодити в ексікаторі і знову зважити. Висушування і зважування матеріалу повторювати до досягнення постійної маси бюксів.

Примітка. Під час роботи слід дотримуватися таких правил. Сирій матеріал повинен лежати в бюксах пухко. Не можна витримувати його в шафі без перерви понад 5 год. Бажано розмістити бюкси на одному рівні з кулькою термометра і не впритул до стінок шафи. Брати бюкси слід щипцями, а не руками, тому що в останньому випадку маса буде змінюватись.

3. Розрахувати масу води в наважці, яка дорівнює різниці мас

сирого і висушеного матеріалів. Потім розрахувати вміст води в процентах відносно до сирій та сухої мас рослинного матеріалу.

4. Результати записати у таблицю 2.1.

Таблиця 2.1. Визначення вмісту води та сухої речовини у рослин різних екологічних груп

| Назва рослини, ярус, варіант | Номер бюкса | Маса бюкса, г | Маса бюкса з сирію наважкою, г | Маса сирій наважки, г | Маса бюкса з сухою наважкою, г | Маса сухої наважки, г | Вміст води, пробі, г | Вміст води, % |
|------------------------------|-------------|---------------|--------------------------------|-----------------------|--------------------------------|-----------------------|----------------------|---------------|
|------------------------------|-------------|---------------|--------------------------------|-----------------------|--------------------------------|-----------------------|----------------------|---------------|

4. Зробити висновки.

Контрольні запитання та завдання

1. Про що свідчать результати ваших досліджень?
2. Які пристосування виробились у рослин до умов недостатнього водозабезпечення?
3. Які пристосування виробились у рослин до умов надмірного зволоження?
4. Що таке плач рослин й чому він відбувається?
5. Як відрізняються між собою за особливостями водного режиму рослини закритого й відкритого ґрунтів?

РОБОТА 11. ВИЗНАЧЕННЯ ІНТЕНСИВНОСТІ ТРАНСПІРАЦІЇ ТА ВІДНОСНОЇ ТРАНСПІРАЦІЇ ВАГОВИМ МЕТОДОМ

Транспірація (випаровування води рослинами) вимірюється кількістю випаруваної води одиницею листової поверхні за одиницю часу. Величина транспірації залежить від багатьох факторів (температури, освітлення, водопостачання тощо), а також змінюється впродовж доби в межах $10 \div 300 \text{ г} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{год}^{-1}$.

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

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

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

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

Хід роботи.

1. В пробірку налити воду, в яку занурити черешок листка (гілку). Попередньо зрізи поновити з метою видалення з трахей і трахеїд повітря.
2. На поверхню води в пробірці нанести $1 \div 2$ краплини рослинної олії і ретельно зважити її з точністю до третього знаку. За одну годину повторно зважити і визначити кількість випарованої води.
3. Отримати величину інтенсивності транспірації, поділивши кількість випарованої води в грамах на площу поверхні листкової пластинки (см^2).
4. Визначити площу поверхні листка. Для цього вирізати з паперу квадрат площею 100 см^2 ($10 \times 10 \text{ см}$) і зважити. Папір повинен бути рівномірним за щільністю. На цей квадрат накласти листок, який був у досліді, і гострим олівцем обвести контур його. Вирізати контур листка, встановити масу його і вирахувати площу за пропорцією. Поверхню листка ще простіше визначити після нанесення його контуру на міліметровий папір.
5. Обчислити інтенсивність транспірації T (в $\text{г} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{год}^{-1}$) за формулою:

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

де C – кількість випарованої листком води за 1 год, г; t тривалість досліду, год; S – площа листка, см^2 .

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

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

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

$$\text{ВТ} = T/E.$$

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

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

9. Результати дослідів записати в таблиці 2.2. та 2.3.

Таблиця. 2.2. Визначення інтенсивності транспірації ваговим методом

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

Таблиця.2.3. Визначення інтенсивності випаровування води з вільної поверхні

| Варіант досліджу | Випаровування | | | Інтенсивність випаровування (E), г·м ⁻² ·год ⁻¹ | T/E | |
|------------------|-----------------------------|------------------|----------------|-----------------------------------------------------------------------|-----|---------------------------------|
| | маса чашки Петрі з водою, г | | втрата води, г | | | площа поверхні, см ² |
| | на початку досліджу | в кінці досліджу | | | | |
| | | | | | | |

10. Зробити висновки.

Контрольні запитання та завдання

1. Що таке транспірація рослин?
2. Яке значення транспірації для рослин?
3. Що таке відносна транспірація?
4. Від яких факторів середовища залежить інтенсивність транспірації?
5. Якими методами можна обчислити площу поверхні листка?
6. Для чого в пробірку з листком наливають краплину олії?
7. Поясніть чому інтенсивність освітлення (вологість повітря, концентрація CO₂ тощо) впливають на інтенсивність транспірації.
8. Який вплив транспірації на продуктивність рослин?

РОБОТА 12. ВИЗНАЧЕННЯ ІНТЕНСИВНОСТІ ТРАНСПІРАЦІЇ У РІЗНИХ ЕКОЛОГІЧНИХ ГРУП РОСЛИН (ЗА ІВАНОВИМ)

Метод базується на визначенні зміни маси зрізаного листка за короткий (до 5 хв.) проміжок часу, що дає змогу спостерігати транспірацію при тому стані насичення листка водою, в якому він перебував на інтактній рослині. За більш тривалої експозиції вміст води в листку зменшується, що відповідно зумовлює зменшення інтенсивності транспірації.

Мета роботи. Встановити інтенсивність транспірації у представників груп гігро-, мезоі ксерофітних рослин в кімнатних умовах і за дії вітру.

Матеріали, реактиви, обладнання. Двотижневі проростки пшениці або кукурудзи; листки рослин різних екологічних груп, торсійні ваги, вентилятор, ножиці.

Хід роботи.

1. На торсійних терезах швидко зважити листки одного ярусу з 5 рослин.
2. За 5 хв. після зважування першого листка, вдруге зважити всі листки в тій самій послідовності.
3. Результати записати в таблицю 2.4.

Таблиця 2.4. Визначення інтенсивності транспірації у листках різних рослин

| Варіант досліді | Маса листка | Повторніс | | | Сумарна маса | Втрата води 10 листкам | T, г м ⁻² тод ⁻¹ |
|-----------------|--------------|-----------|---|---|--------------|------------------------|----------------------------------------|
| | | 1 | 2 | 3 | | | |
| 1. | Початк | | | | | | |
| 2. | ова Через | | | | | | |

4. Виконати розрахунки за сумарною масою 5 листків кожного варіанту.
5. Визначити інтенсивність транспірації за кімнатних умов (контроль) і сухого теплого вітру (з вентилятором).

Примітка. Можна дослідити інтенсивність транспірації на представниках гігро-, мезота ксерофітів у природних умовах зростання.

Контрольні запитання та завдання

1. Поясніть, чому вимірювання інтенсивності транспірації обмежують 5-хвилинним інтервалом.
2. Які існують пристосування у рослин для регуляції транспірації?

3. Чому під час транспірації води тіло рослини охолоджується ?
4. Чи відомі вам інші механізми тепловідведення крім транспірації ?
5. Проведіть порівняльний аналіз механізмів регуляції транспірації у гідро-, мезота ксерофітних груп рослин.

РОБОТА 13. СПОСТЕРЕЖЕННЯ ЗА ДИНАМІКОЮ ТРАНСПІРАЦІЇ НА ГІЛКАХ ДЕРЕВНИХ РОСЛИН ВПРОДОВЖ ДНЯ

Інтенсивність транспірації змінюється під впливом факторів навколишнього середовища (температури, освітлення, спектрального складу, вологості повітря тощо). Переконатися в цьому можна провівши досліди зі зрізаними гілками різних деревних порід.

Мета роботи. Провести спостереження за інтенсивністю транспірації у різних видів рослин під впливом факторів навколишнього середовища.

Матеріали, реактиви, обладнання. Гілки деревних рослин (ялини, дуба, липи, бузку та ін.); бюретки місткістю 50 мл, гумові трубки з затискачами, кристалізатор, гумові пробки, свердла, гострий ніж, ваги з наважками, парафін, міліметровий папір, вентилятори.

Хід роботи.

1. Бюретки місткістю 50 мл з гумовою трубкою та затискачем заповнити водою і закрити гумовою пробкою з отвором. Воду для цього взяти відстояну в кристалізаторі впродовж доби з метою видалення розчинених в ній газів.
2. Підрізати під водою дослідні гілки і щільно вставити в отвори пробок (нижні кінці гілок попередньо очистити від кори на 10÷12 мм).

Примітка. Бюретки з гілками перевернути донизу і перевірити

герметичність приладу (вода не повинна витікати з бюретки).

3. Відкрити затискач і встановити рівень води в бюретці на верхній поділці.
4. Штативи з приладами виставити в умовах досліду і відмічати рівень води в бюретці з інтервалом 2 год.
5. Результати записати в таблицю 2.5.

Таблиця 2.5. Визначення інтенсивності транспірації рослин

| Вид рослини | Випаровування води, мл | | | | | | | | Інтенсивність транспірації, $\text{г} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{год}^{-1}$ |
|-------------|------------------------|---|----|----|----|----|----|----|----------------------------------------------------------------------------------|
| | години | 8 | 10 | 12 | 14 | 16 | 18 | 20 | |
| | | | | | | | | | |

6. У польових умовах одночасно провести метеорологічні спостереження.
7. Після досліду визначити площу листків. Щоб визначити поверхню випаровування у хвойних порід (сосни, модрина) обірвати хвою, зважити її і обчислити площу, враховуючи, що 1 г сирої хвої сосни відповідає 33 см^2 , а 1 г сирої хвої модрина відповідає площі 150 см^2 .
8. Розрахувати інтенсивність транспірації для кожного виду рослин і побудувати діаграми.

Контрольні запитання та завдання

1. Яке значення має процес транспірації у життєдіяльності рослин?
2. Чому змінюється інтенсивність транспірації впродовж дня?
3. Які пристосування для регуляції транспірації у хвойних порід?
4. Чому градієнт водного потенціалу є рушійною силою надходження та пересування води в рослині?

РОБОТА 14. ВИЗНАЧЕННЯ ВІДНОСНОЇ АКТИВНОСТІ

ВОДИ В РОСЛИНІ

Для фізіологічного стану клітини важливе значення має термодинамічний стан води, показником якого є *активність води*, тобто здатність до пересування, випаровування та участі в біохімічних реакціях тощо.

За міру активності води приймають відносний тиск водяної пари, з якою система в даних умовах перебуває в рівновазі: P/P_0 , де P – тиск пари над системою; P_0 – тиск насиченої пари над чистою водою за тих самих умов. У живій клітині активність води знижена в результаті процесів гідратації та іммобілізації. Метод визначення активності води в рослині базується на врахуванні втрати води рослиною в камері з сухим повітрям. Одночасно обчислюють випаровування з вільної водної поверхні за тих самих умов.

Мета роботи. Визначити відносну активність води в рослинах залежно від забезпечення їх водою.

Матеріали та обладнання. Тургесцентні та зів'ялі листки рослин; ексикатор з CaCl_2 ; аналітичні або технічні ваги, фольга, картон, ножиці, лінійки.

Хід роботи.

1. З фольги виготовити кювету площею 4 см^2 , для цього взяти шматочок фольги розміром $5 \times 5 \text{ см}$, накласти на нього вирізаний з картону квадрат $2 \times 2 \text{ см}$, краї фольги загнути, а картон витягнути.
2. В кювету налити дистильовану воду так, щоб було повністю вкрите дно її. Кювету зважити і поставити в герметичний ексикатор з CaCl_2 , відмітити час.
3. Зрізати листок, зважити його і вмістити в той самий ексикатор.
4. За 2 год повторно зважити листок і кювету з водою.
5. Визначити площу листка ваговим методом. Розрахувати інтенсивність втрати води листком (I) та випаровування води з кювети (I_0).
6. Відносну активність води (a) в листку обчислити за формулою:

$$a = I/I_0.$$

7. Дослідити тургесцентні та зів'ялі листки різних рослин.
8. Результати записати в таблицю 2.6.
9. У висновках порівняти відносну активність води різних рослин.

Таблиця 2.6 . Визначення відносної активності води в листках різних рослин

| Варіант дослідження | Час зважування | | Маса, г | | Втрати води, мг | Площа, см ² | Інтенсивність втрати води, мг·с ⁻² | Відносна активність води |
|---------------------|----------------|---|---------|---|-----------------|------------------------|-----------------------------------------------|--------------------------|
| | 1 | 2 | 1 | 2 | | | | |
| | | | | | | | | |

Контрольні запитання та завдання

1. Що таке активність води?
2. Чому втрату води рослинами визначають в ексикаторі, а не в термостаті?
3. Що розуміють під поняттям “гомеостатична вода”?
4. Які фактори впливають на втрату води рослиною?
5. Як пристовується рослина до зменшення втрат води?
6. Які рослини втрачають (випаровують) води більше: хвойні чи листяні і чим можна пояснити різницю, якщо вона є?

РОБОТА 15. ВИЗНАЧЕННЯ ВОДОУТРИМНОЇ ЗДАТНОСТІ РОСЛИН (ЗА АРЛАНДОМ)

Водоутримна здатність це спроможність рослин (клітин) утримувати воду за дії різноманітних сил (високої температури, низького парціального тиску води в атмосфері, оточуючому розчині тощо). Водоутримні сили зумовлені дією осмотично-активних сполук в клітині, проникністю клітинних мембран та станом внутрішньоклітинної води. Зменшення проникності плазмалеми,

посилення набрякання мітохондрій, хлоропластів, збільшення кількості зв'язаної води (гідратної та іммобілізованої) в клітинах спричиняють збільшення їхньої водоутримної здатності, а зворотні зміни – зменшення.

Величину водоутримної здатності характеризують кількістю води, яка залишається в клітинах після дії відповідного фактора (низького тиску водяної пари, осмотичного потенціалу розчину). Визначення цього показника за А. Арландом базується на врахуванні втрат води рослинами при підсиханні їх.

Мета роботи. Визначити водоутримну здатність рослин, вирощених за різних умов.

Матеріали, реактиви, обладнання. Рослини квасолі, пшениці та ін., які вирощували на піску без добрив (контрольні) і на піску з внесенням добрив (дослідні); розплавлений парафін; водяна баня, ножиці, технічні ваги, штативи.

Хід роботи.

1. Зрізати по 10 рослин кожного з двох варіантів і негайно занурити місцем зрізу в розплавлений парафін, щоб запобігти втратам води зрізом.
2. Зважити кожен рослин окремо і закріпити їх в штативах. Повторити зважування кожної рослини за 30, 60 та 90 хв. Зменшення маси рослин свідчить про втрату води у процесі випаровування за кожні 30 хв.
3. Дані записати в таблицю 2.7.

Таблиця 2.7. Визначення водоутримної здатності рослин

| № п/п | Маса рослин, г | | | Кількість випарованої води за кожні 30 хв, г | | | Випаровуюча маса, г | | | Втрата води за 30 хв, г | | | Випарованої води, | | |
|-------|----------------|----|----|----------------------------------------------|---|---|---------------------|---|---|-------------------------|---|---|-------------------|---|---|
| | за час, хв | | | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 |
| | 30 | 60 | 90 | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | |

4. Обчислити кількість випарованої води у відсотках від початкової маси рослини за послідовні інтервали в 30 хв.

5. Одержані дані зобразити графічно і зробити висновки щодо водоутримної здатності рослин, вирощених за різних умов живлення.

Контрольні запитання та завдання

1. Що таке водоутримна здатність та від чого вона залежить?
2. Дати критичний аналіз цього методу.
3. Чим можна замінити парафін у досліді?
4. Як залежить водоутримна здатність тканин від кількості в них іонів азоту, калію і кальцію?
5. Чи впливає на водоутримну здатність вік листка, його положення на рослині?
6. Як впливають на водоутримну здатність листків умови навколишнього середовища?

РОБОТА 16. ВИЗНАЧЕННЯ ВОДНОГО ДЕФІЦИТУ РОСЛИН

Водний дефіцит – це нестача води, виражена у відсотках від загальної кількості її при повному насиченні тканин водою. Він може виникати у разі порушення водопостачання рослин і спричинювати тимчасові або тривалі зміни в інтенсивності біохімічних та фізіологічних процесів, що відбивається на продуктивності рослин. Тому цей показник використовують для оцінки рівня водозабезпеченості та діагностики поливу рослин.

Мета роботи. Визначити водний дефіцит у рослин за різних умов їх водозабезпечення.

Матеріали, реактиви, обладнання. Дослідні рослини в різних умовах водопостачання; дистильована вода; сушильна шафа, аналітичні ваги, бюкси, ексікатори, свердла 8 мм діаметром, фільтрувальний папір, щипці, фанерні або гумові пластинки, чашки

Петрі або пробірки в штативах, піпетки.

Хід роботи.

Примітка. В роботі досліджують рослини, вирощені за різних умов водозабезпеченості.

1. Свердлом з діаметром 8 мм зробити 10 висічок з листка, намагаючись обминути товсті жилки.
2. Висічки зважити і вмістити у воду (в чашках Петрі або пробірках) на 2 год для насичення тканин водою.
3. Тургесцентні висічки просушити фільтрувальним папером і зважити.
4. Для контролю диски знову занурити у воду і за 30 хв. зважити повторно.

Примітка. У разі повного насичення тканин водою їхня маса залишається такою самою, як і в попередньому зважуванні.

5. Визначити масу сухої речовини в тканині (порядок визначення описано в роботі №17).
6. На основі одержаних даних обчислити показники водного дефіциту (ВД) у рослин:

$$ВД = \frac{a - б}{a} 100\%,$$

де a – кількість води у висічках за їх водонасичення, г; $б$ – початковий вміст води у висічках, г; 100 – коефіцієнт для перерахунку ВД, %.

7. Обчислити відносну тургесцентність (ВТ), яка показує, яку частку у відсотках становить початкова кількість води в листках від вмісту її в стані насичення:

$$ВТ = \frac{в - з}{д - з} 100\%,$$

де $в$ – маса сирої тканини до занурення її у воду, г; $з$ – маса сухої тканини до занурення її у воду, г; $д$ – маса тургесцентної тканини після насичення її водою, г.

8. Розрахувати дефіцит відносної тургесцентності (ДВТ) – кількість води, яка потрібна для досягнення листками рослин

тургесцентного стану:

$$ДВЕ = 100\% - ВЕ.$$

9. Результати досліджень записати в таблицю 2.8.

Таблиця 2.8. Визначення водного дефіциту та тургесцентності рослин

| Варіант досліду | Маса бюкса, г | Сира маса, г | Суха маса, г | Початковий вміст води, г | Кількість води в стані тургесцентності, г | Показники водозабезпечення, % | | |
|-----------------|---------------|--------------|--------------|--------------------------|-------------------------------------------|-------------------------------|----|-----|
| | | | | | | ВД | ВТ | ДВТ |

10. Зробити висновки.

Контрольні запитання та завдання

1. Що називають водним дефіцитом?
2. Якими показниками характеризують водний дефіцит рослин?
3. Який вплив водного дефіциту на фотосинтез?
4. Поясніть наступні терміни: польова вологоємність, мертвий запас води в ґрунті, вологість в'янення.
5. Чи є різниця у водовіддачі різних рослин і в чому вона полягає?
6. Як відрізняються за водовіддачею листки рослин з різних місць зростання (затінені й освітлені), з різним шаром кутикули та жилкуванням?
7. Яке значення товщини кутикули листка в його водовіддачі?

РОБОТА 17. ВИЗНАЧЕННЯ ПОЛУДЕННОГО ТА ЗАЛИШКОВОГО ВОДНИХ ДЕФІЦИТІВ

Водний дефіцит в рослинах виникає тоді, коли кількість води, яка витрачається листками в атмосферу перевищує кількість води, яка поглинається коренями. Під цим терміном розуміють кількість води, якої не вистачає для повного насичення рослинних клітин. Її виражають у відсотках до загальної кількості води за повного насичення тканин. За умов значного зниження запасів вологи в ґрунті, вночі не відбувається відновлення денних втрат води, внаслідок чого виникає залишковий водний дефіцит, який спричинює подальше зниження обводнення тканин рослинного організму.

Полуденний та залишковий водні дефіцити є важливими характеристиками водного обміну рослин. Водний дефіцит рослин визначають за двома основними параметрами – вмістом води та її енергетичним статусом, який виражають як загальний водний потенціал.

Методи визначення водного дефіциту рослин умовно поділяють на 4 групи: визначення загального водного потенціалу, осмотичного потенціалу як компонента загального водного потенціалу, вмісту води та водного дефіциту. Метод визначення водного дефіциту дозволяє встановити ступінь стійкості рослин до дії несприятливих зовнішніх факторів не лише окремих культур, а й сортів, форм та ліній в межах однієї культури.

Мета роботи. Визначити полуденний та залишковий водний дефіцит у різних рослин.

Матеріали, реактиви, обладнання. Дослідні рослини, що відрізняються рівнем стійкості до дії несприятливих факторів довкілля; дистильована вода; аналітичні ваги, сушильна шафа, ексикатор з водою, пробірки в штативах, піпетки, фільтрувальний папір.

Хід роботи.

1. Для визначення полуденного водного дефіциту листків зразки відібрати впродовж дня, залежно від завдань досліджень, а залишкового – за 0,5 год. до сходу сонця. Перед початком дослідів відмітити однаково розвинені листки певного ярусу.

2. Листок пшениці, жита, або злакових трав зрізати біля основи листової пластинки, зважити на аналітичних терезах і вмістити в пробірки (висотою 12÷14 см) з 2÷3 мл дистильованої води.
3. Пробірки із зразками вмістити в ексікатор, на дні якого міститься вода, закрити кришкою і залишити на 10÷12 год. до повного насичення листків водою. Повторність дослідів –10-ти кратна.
4. Після насичення водою, листки вийняти з пробірок, обтерти фільтрувальним папером, зважити, висушити до постійної маси і знову зважити.
5. Розрахувати залишковий та денний водні дефіцити за формулою:

$$X = \frac{100 \cdot (a - б)}{б - в},$$

де X – водний дефіцит листка, % від маси води в насиченому водою листку; a – маса листка до насичення водою, г; $б$ – маса листка після насичення водою, г; $в$ – маса сухої речовини в наважці, г.

6. Результати записати в таблицю 2.9.

Таблиця 2.9. Визначення полуденного та залишкового водного дефіциту листка

| Вид рослин и | Маса листка до насичення, г | Маса листка після насичення, г | Маса сухої речовини, г | Водний дефіцит, % |
|-----------------|--------------------------------|-----------------------------------|---------------------------|----------------------|
| | | | | |

7. Зробити висновки.

Контрольні запитання та завдання

1. Що таке полуденний та залишковий водні дефіцити? Для чого застосовують визначення цих показників?
2. Які переваги даного методу визначення водного дефіциту перед іншими?
3. Яку роль відіграють продихи та їхній стан у формуванні

водного режиму рослин?

4. Чи відіграє роль у водовіддачі колір листків і чи може ця особливість рослини впливати на її водний режим рослини й чому?

5. Як краще доглядати рослину, щоб уникнути виникнення водного дефіциту?

6. Яку роль у формуванні водного дефіциту відіграють колоїди рослини?

РОБОТА 18. ВИЗНАЧЕННЯ ШВИДКОСТІ ВТРАТИ ВОДИ ПІД ЧАС В'ЯНЕННЯ РОСЛИН З РІЗНИМИ МОРФО-ФІЗІОЛОГІЧНИМИ ОЗНАКАМИ

Показник швидкості втрати води, на відміну від транспірації, визначають за тривалих експозицій (10÷12 год., доба, а інколи й більше). Він дає уявлення про здатність рослин утримувати воду в процесі в'янення за значного дефіциту її.

Мета роботи. Визначити водоутримувальну здатність рослин різних видів та її взаємозв'язок з морфо-фізіологічними особливостями органів.

Матеріали, реактиви, обладнання. Рослини різних видів, торсійні ваги, лінійки, міліметровий папір, бюкси для визначення маси сухої речовини, термостат.

Хід роботи.

Примітка. В досліді можна вивчити швидкість втрати води листками або підземними органами таких дібровних видів, як розхідник (*Glechoma hederacea*), купина (*Polygonatum multiflorum*), копитняк (*Asarum europeum*), фіалка (*Viola odorata*), мокрець (*Stellaria holostea*), проліска сибірська (*Scilla sibirica*), ряст (*Coridalis halleri*), анемона жовтецева (*Anemona ranunculoides*) та ін.

1. Зважити по три листки кожного виду на торсійних вагах з інтервалом в 1 год.

2. Відібрати середні проби, визначити в них кількість сухої

речовини і прийняти її сталою протягом усього досліджу.

3. Побудувати графіки, на яких на осі абсцис відкласти час, а на осі ординат – вміст води у відсотках від початкового.

4. Зробити висновки щодо водоутримної здатності різних видів і взаємозв'язок її з морфолого-фізіологічними особливостями рослин.

Контрольні запитання та завдання

1. Що розуміють під водоутримною здатністю рослин?
2. Яке пристосувальне значення має ця властивість рослин?
3. Які екологічні групи рослини ви знаєте?
4. Які морфолого-анатомічні ознаки впливають на швидкість водовіддачі рослин?
5. Чи можна впливати на водоутримну здатність рослин зміною умов мінерального живлення.
6. Як впливає на водоутримну здатність рослин вітер, дощ, поливання ґрунту, наявність солей у ґрунті?

КОНТРОЛЬНІ ЗАПИТАННЯ ДО РОЗДІЛУ „ВОДНИЙ РЕЖИМ РОСЛИН”

- 1.Що зумовлює поглинання води коренями у разі слабкої та сильної транспірації? Як вода рухається від кореневих волосків до ксилеми центрального циліндра?
2. Чому під час посухи не можна підживлювати рослини?
3. Посуха і засолення ґрунтів аналогічно впливають на поглинання води рослинами. Як це можна пояснити?
4. У рослини, корені якої занурені у воду, при додаванні солей настає в'янення. Через деякий час тургор може відновитися. Як це можна пояснити?
5. Поясніть, чому вода у деревних рослин піднімається на висоту, значно більшу ніж 10 м (максимально на таку висоту можна підняти воду механічним насосом).
6. Як можна виміряти швидкість пересування води в стовбурах дерев, не порушуючи їхньої цілісності?
7. Що запобігає розриву водних тяжів у ксилемі?
8. При хлорозі кукурудзи дуже сильно знижуються фотосинтез і

поглинання іонів калію. Опишіть, який зв'язок між фотосинтезом і надходженням калію в рослину?

9. Як пояснити в'янення теплолюбних рослин за низьких позитивних температур?

10. По якій тканині стебла йде висхідний потік?

11. Маса листка клена в стані повного насичення 1,53 г, а після в'янення – 1,26 г. Якою буде величина водного дефіциту листка (у відсотках), якщо маса сухої речовини дослідного листка 0,67 г?

12. Як пояснити механізм закривання та відкривання продохів?

13. Які шляхи випаровування води рослиною, крім продохів?

14. Які існують механізми відведення тепла від рослини, крім транспірації?

15. Що таке водний баланс рослини і які його складові частини?

16. Що таке водний дефіцит і які види його ви знаєте?

17. Яка інтенсивність транспірації листків липи площею 780 см², коли відомо, що за 20 хв. їхня маса зменшилася з 21,7 до 12,7 г?

18. Що таке відносна транспірація і про що вона свідчить?

19. Що розуміють під транспіраційним коефіцієнтом? Рослина кукурудзи за вегетаційний період випаровує 600 кг води і нагромаджує 3 кг сухої речовини. Який у неї транспіраційний коефіцієнт?

20. Що таке продуктивність транспірації? Підрахуйте продуктивність транспірації, якщо відомо, що за вегетаційний період рослини пшениці випарували 525 кг води і утворили 2,5 кг органічної маси.

21. Що таке водний потенціал і які його складові?

22. Які анатомо-морфологічні пристосування рослин сприяють посиленню їхньої водоутримної здатності?

23. Які структурні та функціональні показники можна використовувати для діагностики стану водозабезпечення рослин?

24. Чому тріскаються зрілі плоди томатів, черешень, вишень після інтенсивних тривалих дощів?

РОЗДІЛ 3. КОРЕНЕВЕ ЖИВЛЕННЯ РОСЛИН

Кореневе живлення – розділ фізіології рослин, який присвячений вивченню метаболізму поживних елементів. Основні питання, які досліджуються в даному розділі є: надходження елементів живлення в рослинний організм, їх перетворення, фізіолого-біохімічне значення, механізм дії тощо.

Рослина засвоює поживні елементи з ґрунту, повітря і води. Основну частину елементів рослина засвоює з ґрунту у вигляді мінеральних сполук; CO₂ та кисень – з повітря; джерелом водню є вода. Обидва способи живлення рослин – повітряний і кореневий – взаємопов'язані. Наразі у рослин чітко проявляється вибіркова здатність поглинати відповідні хімічні елементи.

Усі елементи живлення рослин за їхнім умістом у клітинах поділяють на елементи-органогени, макро, мікрота ультрамікроелементи. У більшості рослин близько 95 % сухої речовини складають елементи-органогени (С, Н, О, N), приблизно 4% – макроелементи (P, K, Ca, Mg, S, Cl, Na, Si, Al, Fe) і лише 1 % – мікроелементи (Mn, B, Cu, Zn, Ba, Ni, Mo, Co) та ультрамікроелементи (Cs, Cd, Ag, Ra, Au, Hg, As та ін.). Для нормального перебігу всіх фізіолого-біохімічних процесів рослина має бути забезпечена всіма поживними елементами, кожен із яких має певне значення у метаболізмі. Зокрема, встановлена необхідність елементів живлення для нормального функціонування протоплазми, для структурної організації й активності живих клітин, передусім завдяки їх участі у генерації і регенерації енергії, для регуляції процесів обміну. Дослідження функції елементів живлення у життєдіяльності рослин дає змогу науковцям і практикам досягати високої продуктивності сільськогосподарських культур.

Вирішення багатьох практичних завдань живлення рослин потребує глибоких теоретичних досліджень, вивчення фізіологобіохімічного значення поживних елементів, механізму їхнього поглинання, транспортування і використання рослиною. Відповідь на всі ці питання можна одержати експериментальним шляхом, застосовуючи фізіологічні, хімічні і фізико-хімічні методи.

У даному розділі описано основні методичні прийоми

виросування рослин методом водної культури (встановлення рН живильного розчину, забезпечення киснем, водою тощо), схарактеризовано склад живильних сумішей, розглянуто методи дослідження фізіології кореневої системи, якісного та кількісного визначення макро та мікроелементів, їх антагонізму, а також фізіологічного значення у життєдіяльності рослин.

РОБОТА 19. ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ ЗОЛИ У РІЗНИХ ОРГАНАХ РОСЛИН

Елементи живлення в рослинному організмі розподілені нерівномірно. Так, атрагуючим центром для мікроелементів є листки. Це пов'язано з основною функцією листка зеленої рослини фотосинтезом, транспірацією і синтезом різноманітних органічних сполук.

Рослинний матеріал, який висушують за температури $100\div 105$ °С містить органічні та мінеральні речовини. Для визначення вмісту мінеральних елементів необхідно провести *озолення* (спалювання) рослинного матеріалу. За час спалювання органічні речовини вилучаються у вигляді CO_2 , H_2O , N_2 , а залишок зола – містить мінеральні елементи, розчинні в неорганічних розчинниках.

Кількість золи у рослині та її склад непостійні. Вони залежать від виду рослини, органу, ґрунтово-кліматичних умов вирощування тощо. Найбільше золи у листках – $10\div 15$ %, у корі – 7 %, у стеблах – $4\div 9$ %, насінні – 3 %, деревині – 1 %.

Існує два основних способи мінералізації рослинного матеріалу – сухе і мокре озолення.

Метод *сухого озолення* застосовується для аналізу вмісту майже всіх макро і мікроелементів. Перед озоленням наважку рослинного матеріалу подрібнюють у ступці, або в кавомолці, висушують за температури 105 °С, зважують у тиглях на аналітичних терезах. Сухе озолення проводять у порцелянових, кварцових або металічних тиглях у муфельній печі за температури $450\div 500$ °С протягом 4÷6 год. Охолоджені тиглі зважують. Прожарювання і зважування повторюють до встановлення сталої маси. Після повного

спалювання матеріалу зола в більшості випадків має світло-сірий, майже білий колір. Якщо матеріал має багато заліза, то зола набуває червоно-бурого кольору, а марганцю – зеленуватого. Методом сухого спалювання отримують «сиру золу», бо вона містить домішки (солі, оксиди, пісок). «Сира зола» також втрачає певну кількість фосфору, калію, сірки.

Мокре озолення – основний спосіб розкладання органічних сполук азоту та фосфору, крім того, за цим методом не вилучаються калій та сірка, бо температура під час процесу не піднімається вище 340 °С. Його застосовують у разі точного визначення фосфору, калію, сірки та деяких інших елементів. Наразі, коли визначають бор, застосовують лише сухе озолення, бо основна частина сполук бору випаровується з парами води і кислоти. Для озолення застосовують азотну і сірчану кислоти. Об'єкт дослідження спалюють в колбах К'ельдаля місткістю 100÷250 мл. У разі мокрого озолення проводять контрольний дослід без рослинного матеріалу, що дає змогу вносити поправки на вміст певного елемента в реактивах.

Мета роботи. Визначити кількість золи в корі, деревині, листках, коренях деревних рослин (яблуня, вишня, береза тощо) методом сухого озолення матеріалу.

Матеріали, реактиви, обладнання. Кора, деревина, листки, корені; етиловий спирт; аналітичні ваги, технічні ваги, ексикатор, порцелянові тиглі, муфельна піч, електрична плитка, скальпелі, кавомолка.

Хід роботи.

1. Рослинний матеріал подрібнити у кавомолці та висушити за температури 105 °С до сухої маси.
2. Порцелянові тиглі пронумерувати графітним олівцем (краще насиченим розчином нітрату кобальту), прожарити у муфельній печі, перенести в ексикатор, охолодити і зважити на аналітичних вагах.
3. У тиглях зважити сухий рослинний матеріал (1÷2 г).
4. Сухий матеріал кілька разів залити 1÷2 мл етилового спирту та підпалити.
5. Тигель поставити на електричну плитку і прожарити

впродовж 5÷6 хв.

6. Перенести тиглі в ексикатор, охолодити, зважити й обчислити вміст золи у рослинному матеріалі за формулою:

$$X = \frac{a \cdot 100}{H} \%$$

де X – вміст золи в рослинному матеріалі, %;

a – кількість «сирої золи», г;

H – наважка повітряно-сухої речовини, г;

100 – для перерахунку у відсотки.

Примітка. Отриману «сиру золу» використовують для визначення макрота мікроелементів.

7. Результати роботи записати у таблицю 5.1.

Таблиця 5.1. Визначення вмісту золи у різних органах рослин

| Об'єкт дослідження | Частина рослини | Номер тигля | Маса тигля, г | | | Маса, г | | Вміст золи, % |
|--------------------|-----------------|-------------|---------------|------------|----------|---------|------|---------------|
| | | | порожнього | з наважкою | із золою | наважки | золи | |
| | | | | | | | | |

8. Зробити висновки щодо вмісту золи в різних органах рослин.

Контрольні запитання та завдання

1. Схарактеризуйте хімічний склад рослин.
2. Назвіть методи мінералізації рослинного матеріалу.
3. У яких випадках проводять мокре та сухе озолення? Які переваги та недоліки кожного з цих методів?
4. Якими методами визначають вміст золи?
5. Чому у рослин в одних органах вміст золи вищий (листки),
6. Які фактори впливають на зміну якісного та кількісного складу золи?
7. Чи впливає вік рослини на кількісний і якісний склад золи?

РОБОТА 20. МІКРОХІМІЧНИЙ АНАЛІЗ ЗОЛИ

Серед усіх поживних елементів у рослин 24 хімічні елементи є життєво необхідними, 21 елемент вважають умовно необхідними. *Життєво необхідні* – це елементи, без яких рослина не може повністю закінчити цикл свого розвитку і які не можуть бути заміненими іншими елементами. Фізіологічне значення умовно необхідних елементів остаточно не досліджено. Елементи, необхідні рослинам, відносяться до різних груп періодичної системи елементів Менделєєва. Наразі слід зазначити, що у високих концентраціях більшість елементів токсичні для рослин.

Для встановлення хімічного складу золи застосовують мікрохімічний метод – якісні реакції, в результаті яких утворюються характерні для певних речовин кристали або забарвлення розчину. Цей метод не потребує значної кількості матеріалу. Аналіз дає змогу виявляти як макро-, так і мікроелементи.

Мета роботи. Ознайомитися з мікрохімічними (крапельними) методами аналізу елементів і визначити елементний склад листків залежно від умов живлення та віку рослин.

Матеріали, реактиви, обладнання. Зола листків різних видів рослин; дистильована вода, аміак, 10 %-й розчин соляної кислоти, 1 %-ві розчини: сульфату талію, хлориду платини, сірчаної кислоти, фосфату натрію, молібдату амонію в азотній кислоті, нітрату стронцію, жовтої кров'яної солі, тартрату натрію, щавлевої кислоти, гідрату нітрату меркурію (I), ацетату свинцю, нітрату срібла, комплексна натрієва мідно-свинцева нітратна сіль $\text{Na}_2\text{CuPb}(\text{NO}_3)_6$ для аналізу на калій; пробірки (по чотири на студента), скляні палички, штативи для пробірок, предметні стекла, маленькі лійки, мікроскопи, фільтрувальний папір, порцелянові пластинки.

Приготування реактиву:

ніж у інших (деревина)?

•

- сіль $\text{Na}_2\text{CuPb}(\text{NO}_3)_6$: 2 г NaNO_3 (що не містить калію), 0,9 г $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$

COO) · 3H O розчиняють у 15 мл дистильованої води, під исленої 0,2 мл 30 %-ї оцтової кислоти. Отриманий розчин зберігають у склянці з притертою кришкою.

Хід роботи.

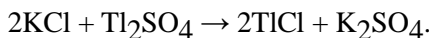
Мінеральні речовини, що входять до складу золи, розчинні у воді, або кислоті. Тому для мікрохімічного аналізу готують два розчини золи: у воді і в 10 %-й соляній кислоті.

1. Приготування водної і кислотної витяжки золи – у дві пробірки внести по 1 см³ золи та додати: в першу 5 мл води, а в другу – 5 мл 10 %-ї HCl, розчини ретельно перемішати скляною паличкою (для кожної пробірки окремою). За 2÷3 хв. відфільтрувати кризь паперовий фільтр у чисті сухі пробірки.

2. На предметне скло на відстані 1 см нанести краплину витяжки золи (водної або кислотної, відповідно до елемента, який визначається) і краплину відповідного реактиву.

2.2. *Виявлення хлору.* Використовують водну витяжку золи.

• Реактивом на хлориди є сірчанокислий талій (TI SO). Між хлоридами і сульфатом талію відбувається реакція:



У результаті реакції хлорид талію випадає у вигляді кристалів хрестоабо мечоподібної форми (рис. 5.1). Внаслідок значного заломлення променів ці кристали мають чорний колір. Сульфат талію можна замінити нітратом талію.

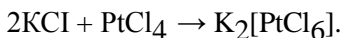
• Як реактив на хлориди використовують також розчин нітрату срібла AgNO₃. Хлориди з AgNO₃ утворюють білий осад (реакція відбувається у пробірці).

2.3. *Виявлення калію.* Для реакції використовують як водну, так і кислотну витяжку золи залежно від реактивів.

• Реактив тартрату натрію однозаміщеного NaHC₄H₄O₆ з нейтральним розчином солей калію утворює кристали тартрату калію однозаміщеного KHC₄H₄O₆ у вигляді великих призм і пластинок. Для реакції використовують водний розчин, який обов'язково доводять до нейтрального рН, оскільки кристали тартрату калію однозаміщеного добре розчиняються в кислотах і

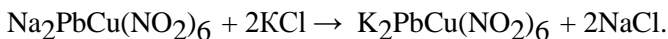
лугах.

- Реактив – хлорид платини $PtCl_4$. Використовують водний або кислотний розчини. Відбувається реакція



У результаті реакції утворюються жовто-зелені октаедричні кристали гексахлорплатинату калію, інколи у вигляді тетраєдрів і кубів (рис. 5.1).

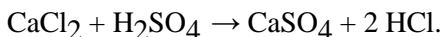
- Реактив комплексної солі $Na_2PbCu(NO_2)_6$. Використовують водну витяжку золи. Відбувається реакція:



Через деякий час утворюються свинцево-чорні і темно-корич неві кристали свинцево-мідного нітрату калію (рис. 5.1).

2.4. *Виявлення кальцію.* Для реакцій на кальцій і наступні елементи використовують кислотну витяжку золи.

- Реактив – сірчана кислота. Відбувається реакція:

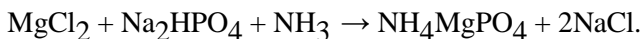


У результаті реакції утворюються характерні довгі тонкі голки гідратованого сульфату кальцію $CaSO_4 \cdot 2H_2O$ (гіпс), потім голки об'єднуються в структури, що нагадують сніжинки, які накопичуються одна на одну (рис. 5.1). Голки можуть переходити в тонкі призми та маси пластинок, що накопичуються одна на іншу.

- Реактив – щавлева кислота. У результаті реакції випадають кристали оксалату кальцію ($CaC_2O_4 \cdot 3H_2O$) у вигляді октаєдрів, кубів, інколи хрестів.

2.5. *Виявлення магнію.*

Реактив – фосфат натрію $NaHPO_4$. Спочатку в краплину досліджуваної рідини додають краплину аміаку для нейтралізації і вже потім з'єднують із реактивом дугоподібним каналом. Відбувається реакція:

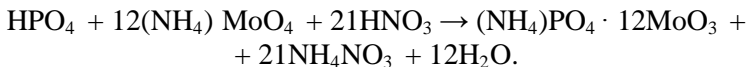


У результаті реакції утворюються кристали фосфорно-аміачно-

магнезійної солі у вигляді кришечок, сніжинок, крил, квадратів, прямокутників, зірок (рис. 5.1).

2.6. *Виявлення фосфору.*

• Реактив – 1 %-й розчин молібдату амонію в 15 %-й азотній кислоті. Відбувається реакція:

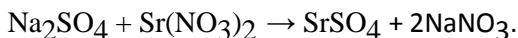


У результаті реакції випадає жовто-зелений осад дрібних кристалів фосфоромолібдату амонію. З часом осад набуває інтенсивнішого забарвлення (рис. 5.1).

• Реактив – гідрат нітрат меркурію (I) $\text{Hg}(\text{NO}_3)$. У результаті реакції утворюється осад фосфату меркурію у вигляді пучків, голок, кристалічних розеток.

2.7. *Виявлення сірки.*

• Реактив – азотнокислий стронцій $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$. Відбувається реакція:



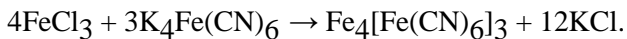
У результаті реакції випадає дрібнокристалічний осад сульфату стронцію. Кристалики мають заокруглену форму.

• Реактив – нітрат срібла AgNO_3 . У результаті реакції утворюються кристали сульфату срібла Ag_2SO_4 , які мають форму витягнутих шестикутників і ромбів. Охолодження може прискорити формування кристалів.

Реактив – ацетат свиню $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$. У результаті реакції утворюються дуже дрібні кристали сульфату свинцю у вигляді довгих голок, зірок, ромбів (рис. 5.1).

2.8. *Виявлення заліза.*

Реактив – жовта кров'яна сіль $\text{K Fe}(\text{CN})$. Реакція відбувається у пробірці або на порцеляновій пластинці. До кількох краплин досліджуваної рідини поступово додати кілька краплин 1 %-го розчину жовтої кров'яної солі. Відбувається реакція:



Наявність заліза визначають за утворенням берлінської лазури яскраво-синього забарвлення.

3. Препарувальною голкою з'єднати обидві краплини дугоподібним каналом.

Примітка. Препарат можна злегка підсушити над полум'ям спиртівки. Однак слід пам'ятати, що тільки за повільної кристалізації утворюються великі, правильно сформовані кристали. Необхідно також уникати повного перемішування краплин, тому що відбудеться швидка кристалізація – випадуть дуже дрібні кристали, які майже непомітні в полі зору мікроскопа. Скляні палички і мікропіпетки після нанесення реактиву слід вимити і витерти фільтрувальним папером, щоб його залишки не заважали наступній реакції.



Рис. 5.1. Кристали (під мікроскопом): 1 – хлориду талію;

- 2 – свинцево-мідного нітрату калію; 3 – сульфату кальцію (гіпсу);
4 – фосфорно-аміачно-магnezіальної солі; 5 – фосфорномолібдату амонію.

4. Препарат розглянути під мікроскопом без накривного скельця (об'єктив х8, х10, окуляр х15)

5. Результати мікрохімічного аналізу записати у таблицю 5.2.

Таблиця 5.2. Мікрохімічний аналіз золи

| Елемент | Витяжка золи (водна, кислотна) | Реактив | Хімічна реакція | Результат реакції (форма, розмір кристалів, колір розчину тощо) |
|---------|-----------------------------------|---------|--------------------|--------------------------------------------------------------------------|
| | | | | |

Контрольні запитання і завдання

1. Як класифікують поживні елементи за їхнім вмістом у рослинах?

2. Які поживні елементи є життєво та умовно необхідними для рослин?

3. За якими критеріями хімічний елемент можна вважати життєво необхідним?

4. Для чого готують водну і кислотну витяжку золи?

5. Чому для одержання зольних елементів використовують соляну, а не інші кислоти?

6. Як виявити калій, кальцій, магній та інші елементи в золі?

7. Для чого проводять аналіз золи рослин?

РОБОТА 21. ВИЗНАЧЕННЯ В ЗОЛІ МАКРОІ МІКРОЕЛЕМЕНТІВ

Поживні елементи, які поглинаються рослинами з ґрунту в різних концентраціях, мають певне біохімічне і фізіологічне значення і відповідають за синтез відповідних речовин у рослинному організмі. *Азот* входить до складу амінокислот, білків, нуклеїнових кислот, гормонів росту, багатьох вітамінів, хлорофілу й інших життєво важливих органічних сполук.

Фосфор – компонент фосфопротеїнів, нуклеїнових кислот (НК), фосфоліпідів, фосфорних ефірів цукрів, нуклеотидів. Особливе значення фосфору в енергетиці клітини, оскільки він входить до

складу основних енергетичних депо АТФ і НАДФ. Фосфор посилює накопичення цукрів у фруктах і овочах, крохмалю в бульбах картоплі.

Калій складає основну частину катіонів клітинного соку і є основним іоном нейтралізації від'ємно заряджених аніонів. Цей макроелемент сприяє підтримці стану гідrataції колоїдів цитоплазми, регулює її водоутримуючу здатність і забезпечує надходження води в рослину, допомагає рослинам легше переносити посуху і заморозки. Калій потрібен для поглинання і транспортування води по рослині, один із катіонів-активаторів ферментних систем. Під впливом калію посилюється накопичення крохмалю в бульбах картоплі, сахарози в цукровому буряку, моносахаридів у плодах і овочах, підвищується стійкість рослин до грибкових і бактеріальних захворювань.

Кальцій стабілізує функції усіх клітинних структур. Йони кальцію виконують сигнальну функцію і є універсальними регуляторами життєдіяльності клітини. Кальцій регулює активність ферментів, бере участь у структурній організації хромосом, є зв'язуючою ланкою між ДНК і білком, виконує різноманітні функції в обміні речовин організму.

Магній входить до складу хлорофілу, підтримує структуру рибосом, сприяє обміну речовин, підвищує активність ферментів, він необхідний для процесів дихання, фотосинтезу, синтезу НК і білків. Магній підсилює синтез ефірних олій, каучуку, вітамінів А і С.

Сірка входить до складу амінокислот – цистину, цистеїну, метіоніну; вітамінів – ліпоевої кислоти, біотину, тіаміну; деяких антибіотиків, зокрема пеніциліну та багатьох ферментів. Одна з основних функцій сірки – участь SH-групи в утворенні ковалентних, водневих, меркаптидних зв'язків. Інша важлива функція

Залізо міститься в окисно-відновних ферментах (цитохроми, цитохромоксидаза, каталаза, пероксидаза) і має важливе значення у диханні рослин, фотосинтезі, синтезі хлорофілу тощо.

В аналітичній хімії існує низка методів, за допомогою яких можна якісно й кількісно визначати наявність у золі певних елементів. Це потрібно для встановлення потреби рослин в елементах живлення.

Мета роботи. Визначити хімічний склад золи деревини кількох видів рослин: яблуні, сосни, берези; оцінити значення золи як мінерального добрива.

Матеріали, реактиви, обладнання. Зола деревини досліджуваних рослин; вода дистильована, HNO_3 (конц.), CH_3COOH (конц.), 1 н. розчин NaOH , 5 %-і розчини HCl , NH_4CNS , гексанітрокобальтату натрію, щавлевої кислоти, 10 %-і розчини $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$, BaCl_2 , HNO_3 , етиловий спирт, кристалічний NH_4NO_3 , пероксид свинцю, персульфат амонію; порцелянові тиглі, електрична плитка, фільтри, пробірки, лакмусовий папір, піпетки, чашки Петрі.

Хід роботи.

1. У порцеляновий тигель помістити 1 г золи, додати 1 мл концентрованої HNO_3 , перемішати скляною паличкою і додати 10÷20 мл дистильованої води.

2. Тигель з кислотною витяжкою золи поставити на електричну плитку, розчин довести до кипіння, відфільтрувати.

3. Одну частину фільтрату розлити у три пробірки по 2 мл для визначення калію, фосфору, сірки.

- *Визначення калію.* До 2 мл фільтрату додати 0,5 мл кобальтнітриту натрію і 2 мл етилового спирту. Витримати 15÷30 хв. За наявності йонів калію випадає жовтий осад.

- *Визначення фосфору.* До 2 мл фільтрату внести кристали нітрату амонію NH_4NO_3 , довести до кипіння, додати 1 мл 10 %-го водного розчину $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$. За наявності йонів фосфору випадає золотаво-жовтий осад.

Визначення сірки. До 2 мл фільтрату додати 1 мл 10 %-го розчину BaCl_2 . За наявності SO_4 утворюється біла каламуть.

4. Другу частину фільтрату довести розчином NaOH до слабкої лужної реакції (за лакмусом) і відфільтрувати драглистий осад, в якому міститься $\text{Al}(\text{OH})_3$, $\text{Fe}(\text{OH})_3$, $\text{Mn}(\text{OH})_2$.

Увага! Осад зберігають для визначення заліза та марганцю (див. п. 6.).

5. Лужний розчин після фільтрування нейтралізувати HCl і підкислити кількома краплинами оцтової кислоти для визначення

кальцію.

- *Визначення кальцію.* До 2 мл фільтрату додати 1 мл 5 %-го розчину шавлевої кислоти. За наявності йонів кальцію розвивається біла каламуть.

6. Драглистий осад на фільтрі облити 10 мл азотної кислоти, відфільтрувати, фільтрат розлити у дві пробірки по 2 мл для визначення заліза і марганцю.

Примітка. Використовують фільтрат, що залишився після відокремлення драглистого осаду, нейтралізований та підкислений оцтовою кислотою (п. 4).

- *Визначення заліза.* До фільтрату в пробірку додати 2÷3 краплини 5 %-го NH_4CNS . За наявності заліза розвивається червоне забарвлення.

- *Визначення марганцю.* До 2 мл фільтрату додати 0,5 мл концентрованої азотної кислоти і 0,5 мл пероксиду свинцю (або 0,1 г персульфату амонію), нагріти 5 хв. на киплячій водяній бані. Якщо є марганець, розчин забарвлюється у фіолетовий колір.

7. Результати дослідів записати у таблицю 5.3.

Таблиця 5.3. Хімічний склад золи

| Елемент | Реактив | Результат реакції |
|---------|---------|-------------------|
| | | |

Контрольні запитання та завдання

1. Що таке вибіркова поглинальна здатність?
2. Чому концентрація поживних елементів у рослин і в ґрунті суттєво відрізняється?
3. Наведіть приклади життєво необхідних елементів живлення рослин.
4. Яке фізіологічне значення життєво необхідних елементів у метаболізмі рослин?

Робота 22. ВИГОТОВЛЕННЯ ЖИВИЛЬНИХ РОЗЧИНІВ

Система живлення рослин, внесення органічних і мінеральних добрив, своєчасне і правильне підживлення разом із застосуванням інших агрозаходів забезпечують високі врожаї усіх сільськогосподарських культур. Щоб знайти потрібне дозування, встановити терміни внесення і виявити ефективність певних форм добрив або окремих елементів проводять вегетаційні дослідження за умов вирощування рослин у *піщаних, ґрунтових* і *водних* культурах. Отримані дані вегетаційних досліджень перевіряють на великих площах.

Для вирощування рослин у водних і піщаних культурах використовують розчини солей, які містять усі необхідні елементи живлення. Вперше *метод водних культур* запропонували німецькі дослідники У. Кноп та Ю. Сакс. За цим методом готують спеціальні живильні суміші. Склад солей підбирають таким чином, щоб розчини солей за складом наближалися до розчину золи. Наразі одні елементи рослини засвоюють у вигляді катіонів (більшість металів), а інші – у вигляді аніонів (більшість неметалів), тому підбирають такі солі, де необхідні елементи містяться в катіонній і аніонній формі. Розчин, який містить у достатній кількості всі необхідні елементи для нормальної життєдіяльності рослин, називається *нормальним живильним розчином*.

До складу нормального живильного розчину обов'язково входять такі сім елементів: азот, фосфор, калій, сірка, кальцій, магній, залізо. Слід пам'ятати, що універсального живильного розчину для всіх рослин не існує.

Основні вимоги до нормального живильного розчину:

- до складу розчину повинні входити всі необхідні для рослин поживні елементи;
- окремі складові частини живильного розчину мають бути у формі, доступній для засвоєння рослиною;
- поживних речовин у розчині має бути стільки і в такому співвідношенні, щоб вони забезпечили високу продуктивність рослин;
- реакція середовища (рН) має бути оптимальною для рослин упродовж усього вегетаційного періоду.

Мета роботи. Ознайомитися зі складом найвідоміших розчинів для

виросування рослин, приготувати деякі з них, виростити на них розсаду для подальших дослідів з фізіології рослин.

Матеріали, реактиви, обладнання. Дистильована вода, нітрат кальцію $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, хлорид калію KCl , сульфат магнію $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, фосфат калію KH_2PO_4 , хлорид заліза FeCl_3 , нітрат калію KNO_3 , сульфат кальцію CaSO_4 , фосфат кальцію $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, фосфат заліза $\text{Fe}_3(\text{PO}_4)_2$, нітрат амонію NH_4NO_3 , фосфат кальцію двозаміщений $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; мірні циліндри і колби, аналітичні ваги з різновагами, посуд для зберігання вихідних розчинів, піпетки.

Склад живильної суміші – розчин № 1 (розчин У. Кнопа)

| Реактив | Наважка, г |
|----------------------------------------------------------|------------------|
| Нітрат кальцію $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ | 1,000 |
| Хлорид калію KCl | 0,125 |
| Сульфат магнію $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | 0,250 |
| Фосфат калію KH_2PO_4 | 0,250 |
| Хлорид заліза FeCl_3 | Кілька кристалів |

Основний недолік живильного розчину У. Кнопа – швидке встановлення у ньому лужної реакції, що негативно позначається на фізіологічному стані рослин.

Склад живильної суміші – розчин № 2

| Реактив | Наважка, г |
|----------------------------------------------------------|------------------|
| Нітрат кальцію $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ | 0,492 |
| Фосфат калію KH_2PO_4 | 0,136 |
| Сульфат магнію $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | 0,060 |
| Хлорид калію KCl | 0,075 |
| Хлорид заліза FeCl_3 | Кілька кристалів |

Недолік розчину – кисла реакція (рН 4,2), яка швидко змінюється на лужну (рН 7,2).

Склад живильної суміші – розчин № 3

| Реактив | Наважка, г |
|-------------------------------------|------------|
| Нітрат калію KNO_3 | 0,500 |
| Сульфат кальцію $CaSO_4$ | 0,500 |
| Сульфат магнію $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ | 0,250 |
| Фосфат кальцію $Ca_3(PO_4)_2$ | 0,136 |
| Фосфат заліза $Fe_3(PO_4)_2$ | 0,250 |

Під час приготування розчину частина солей погано розчиняється у воді. Солі розчиняються поступово, в процесі засвоєння їх коренями рослин. Зміна рН у цьому розчині відбувається досить повільно (рН 6,4÷7,0).

Склад живильної суміші – розчин № 4

(розчин Д. М. Прянишникова)

| Реактив | Наважка, г |
|---------------------------------------------------|------------|
| Нітрат амонію NH_4NO_3 | 0,240 |
| Фосфат кальцію двозаміщений $CaHPO_4 \cdot 2H_2O$ | 0,172 |
| Хлорид калію KCl | 0,150 |
| Сульфат магнію $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ | 0,060 |
| Сульфат кальцію $CaSO_4$ | 0,334 |
| Хлорид заліза $FeCl_3$ | 0,025 |

Особливість розчину Д. М. Прянишникова в тому, що джерелом азоту є нітрат амонію – NH_4NO_3 . У цьому розчині показник рН середовища майже не змінюється, що позитивно впливає на ріст і розвиток рослин.

Живильний розчин розроблений для вирощування огірків і помідорів без ґрунту. Склад даного розчину не постійний, його змінюють залежно від фази росту та розвитку рослин, від сезону вирощування (зима, літо).

Хід роботи.

1. Приготувати повний живильний розчин.

- Зазначену кількість солей розчинити у дистильованій воді та довести об'єм до 1 л.

Склад живильної суміші – **розчин № 5**
(розчин В. А. Чеснокова і Є. М. Базиріна)

| Реактив | Наважка, г |
|----------------------------------------------------------|------------|
| Нітрат кальцію $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ | 0,500 |
| Нітрат калію KNO_3 | 0,400 |
| Фосфат калію KH_2PO_4 | 0,140 |
| Нітрат амонію NH_4NO_3 | 0,160 |
| Сульфат магнію $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | 0,230 |
| Сульфат амонію $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ | 0,130 |
| Хлорид заліза FeCl_2 | 0,006 |
| Борна кислота HBO_3 | 0,001 |
| Сульфат марганцю MnSO_4 | 0,001 |
| Сульфат цинку ZnSO_4 | Сліди |
| Сульфат міді CuSO_4 | Сліди |

2. Приготувати повний концентрований живильний розчин.

- Для дослідів, пов'язаних із вирощуванням рослин, приготувати вихідні концентровані розчини – концентрацію солей в 1 л збільшити у 200 разів.

- Перед дослідом 5 мл вихідного концентрованого розчину довести до 1 л дистильованою водою і використати у роботі.

Примітка. Для запобігання збільшення концентрації солей внаслідок випаровування такі розчини зберігають у добре закритих посудинах.

3. Приготувати неповний живильний розчин.

Примітка. У багатьох випадках виникає потреба культивувати рослини на неповному живильному розчині, зокрема при вивченні впливу окремого елемента живлення на ріст і розвиток рослин.

Для виготовлення живильного розчину Кнопа без калію замінюють KH_2PO_4 на $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, а KCl на NaCl . Треба розрахувати необхідну кількість $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, аби кількість фосфору була така сама, як у 0,25 г KH_2PO_4 .

Молекулярна маса KH_2PO_4 – 136 г; P – 31,0 г.

Складаємо пропорцію:

$$\begin{array}{l} 136 \text{ г} \text{ — } 31,0 \text{ г} \\ 0,25 \text{ г} \text{ — } X \text{ г, тоді} \end{array}$$

$$X = \frac{0,25 \text{ г} \cdot 31 \text{ г}}{136 \text{ г}} = 0,057 \text{ г}$$

Молекулярна маса $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ – 358,18 г.

Складаємо пропорцію:

358,18 г — 31 г

X г — 0,057 г, тоді

$$0,057 \text{ г} \cdot 358,18 \text{ г}$$

$$X = \frac{0,057 \text{ г} \cdot 358,18 \text{ г}}{31 \text{ г}} = 0,659 \text{ г}.$$

Для заміни в даному розчині солі KH_2PO_4 на $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ останньої треба взяти 0,659 г на 1 л.

Аналогічно обчислюємо кількість грамів NaCl необхідні для заміни 0,125 г KCl у розчині.

Молекулярна маса KCl – 74, 56 г; Cl – 35,46 г.

Складаємо пропорцію:

74,56 г — 35,46 г

0,125 г — X г, тоді

$$X = \frac{0,125 \text{ г} \cdot 35,46 \text{ г}}{74,56 \text{ г}} = 0,059 \text{ г}.$$

Молекулярна маса NaCl – 58,46 г; Cl – 35,46 г.

Складаємо пропорцію:

58,46 г — 35,46 г

X г — 0,059 г, тоді

$$X = \frac{58,46 \text{ г} \cdot 0,059 \text{ г}}{35,46 \text{ г}} = 0,097 \text{ г}.$$

Отже, склад живильного розчину без калію буде таким:

$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ – 1 г;

$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ – 0,659 г;

NaCl – 0,097 г;

$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,250 г;

FeCl_2 – сліди.

Для приготування розчину Кнопа без фосфору треба KH_2PO_4

замінити на KCl, а для приготування розчину без азоту – $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ замінити на $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Обчислення проводимо аналогічно.

Контрольні запитання та завдання

1. Що таке нормальний живильний розчин?
2. Які хімічні елементи є обов'язковими складовими нормального розчину?
3. За яким принципом підбирають складові живильного розчину?
4. Який рН живильного розчину є оптимальним для більшості культурних рослин?
5. Скільки потрібно взяти $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ замість 1 г $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ у разі вилучення азоту із живильної суміші?
6. Яку кількість KCl необхідно взяти замість 0,25 г K_2HPO_4 у разі вилучення фосфору із живильної суміші?

РОБОТА 23. ВИРОЩУВАННЯ РОСЛИН МЕТОДОМ ВОДНОЇ КУЛЬТУРИ З ВИЛУЧЕННЯМ ДЕЯКИХ ПОЖИВНИХ ЕЛЕМЕНТІВ

Для визначення необхідності певного елемента живлення для рослин його вилучають зі складу живильного розчину і аналізують фізіологічний стан проростків: наприклад, з однієї суміші вилучають азот, з інших – калій, сірку, фосфор тощо. Найзручнішим є метод водних культур, адже рослини, вирощені методом ґрунтової або піщаної культури, під час підготовки кореневої системи для аналізів втрачають меристематичні зони, кореневі волоски, бічні корені тощо. Якщо для дослідів використовують рослину, вирощену в ґрунтовій культурі, то після відмивання коренів її витримують у водному розчині деякий час, протягом якого утворюються нові кореневі структури.

У водній культурі широко використовують скляний або пластиковий посуд місткістю 0,5; 1; 2, а також 3,5 л і більше. На живильних

сумішах рослини вирощують декілька тижнів і спостерігають за їхнім ростом і розвитком. Вилучення будь-якого макрочи мікроелемента з живильної суміші зумовлює певні зміни обміну речовин, гальмування росту, інколи загибель рослин, що дає змогу зробити висновки щодо необхідності даного елемента.

Мета роботи. Навчитися вирощувати рослини методом водної культури з вилученням деяких елементів живлення. Провести морфометричний аналіз проростків.

Матеріали, реактиви, обладнання. Насіння різних рослин, живильні розчини, мірні циліндри, колби, кювети з пластмасовими пластинками для вирощування рослин, пінцети, фільтрувальний папір, скляні трубки і гумові груші для продування повітря, скляні палички, ніж, чорний і білий папір для обгортання посудин, вата, кювети для пророщування насіння, чашки Петрі, термостат; універсальний індикатор (суміш індикаторів – метилового червоного, бромтимолового синього і фенолового червоного у співвідношенні 2:2:1).

Хід роботи.

1. Скляні банки місткістю 1÷3 л, або пластикові кювети місткістю 1 л обгорнути світлонепроникним папером (чорним – всередину, а білим – назовні), щоб живильний розчин не перегрівався.
2. Потрібну кількість однорідних насінин замочити у слабкому розчині перманганату калію на 0,5÷2,0 год (залежно від виду рослин).
3. Насіння проростити у чашках Петрі на фільтрувальному папері змоченому водою за температури 24 °С до утворення корінців завдовжки 0,5÷0,7 см.
4. Підрахувати кількість пророслого і непророслого насіння та визначити його схожість.
5. Найжиттєздатніші проростки пересадити на пластинки з отворами так, щоб не пошкодити корінці.
6. У кювети налити необхідні живильні розчини (робота 68), пластинки з насінням закріпити над кюветами, щоб коренева система була занурена у живильний розчин.

Примітка. Рівень рідини в посудині під час дослідів не повинен змінюватися, а пластинка з рослинами не торкатися розчину в кюветі.

Щоденно крізь живильний розчин продувати повітря, щотижня розчин замінювати на щойно приготовлений.

7. Визначити величину рН живильного розчину, яка має бути в межах 5,5÷6,5. У порцелянову чашку налити 2 мл розчину, додати 2 краплини універсального індикатора та порівняти одержаний колір із кольором стандартної шкали.

Примітка. Якщо потрібно, розчин підкислити слабким розчином лимонної кислоти або підлужити їдким натром.

За рослинами вести систематичні фенологічні спостереження і ретельно записувати їх у щоденник.

8. Провести морфометричний аналіз рослин: визначити висоту стебла, кількість і площу листків, масу сирої та сухої речовини кореневої та надземної частин рослини.

9. Кореневу систему рослин занурити у мірний циліндр з водою. Об'єм витісненої води (в мл) визначити за підняттям рівня води в циліндрі, що відповідає об'єму кореневої системи.

10. Одержані середньостатистичні дані записати у таблицю 5.4.

Таблиця 5.4. Морфометричний аналіз рослин

| Об'єкт дослідження | Варіант дослідів | Висота рослин, см | Надземна частина | | | | Коренева система | | | Зовнішній вигляд рослин |
|--------------------|------------------|-------------------|-------------------|--------------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|-------------------------|
| | | | кількість листків | площа листків, см ² | маса сирої речовини, г | маса сухої речовини, г | об'єм, см ³ | маса сирої речовини, г | маса сухої речовини, г | |
| | Без азоту | | | | | | | | | |
| | Без калію | | | | | | | | | |
| | Без фосфору | | | | | | | | | |

11. Зробити висновки про вплив різних елементів мінерального живлення на ріст і розвиток рослин у водній культурі.

Контрольні запитання та завдання

1. Назвіть основні переваги методу водної культури.
2. Для чого насіння перед висаджуванням замочують у слабкому розчині KMnO_4 ?
3. Як і для чого забезпечують процес аерації у водних культурах?
4. Навіщо закривають темними футлярами прозорі посудини водної культури від світла?
5. Які умови (температура, вологість) є оптимальними для вирощування рослин методом водної культури?
6. Якими методами вимірюють об'єм кореневої системи рослин?
7. Який розчин називають зрівноваженим?

РОБОТА 24. ВИЗНАЧЕННЯ ОБ'ЄМУ КОРЕНЕВОЇ СИСТЕМИ МЕТОДОМ Д. А. САБІНІНА ТА І. І. КОЛОСОВА

Одним з показників, що характеризує кореневу систему, є її об'єм. Найпростіший і досить точний метод визначення об'єму кореневої системи запропонували Д. А. Сабінін і І. І. Колосов. Полягає цей метод у визначенні кількості води, яку витісняють корені під час занурення їх у мірний циліндр. Відносна похибка методу близько 5 %. Об'єм коренів визначають спеціальним *об'ємоміром*, який легко виготовити у будь-якій лабораторії.

Мета роботи. Визначити об'єми корневих систем рослин, вирощених у водній культурі (або інакше) і схарактеризувати фізіологічний стан рослин, відзначити вплив недостачі або надлишку певних елементів у водній культурі на ріст і розвиток рослин.

Матеріали, реактиви, обладнання. Дослідні рослини; дистильована вода; об'ємомір, кристалізатор, штатив, бюретка, фільтрувальний папір.

Хід роботи.

1. Підготувати об'ємомір до роботи. На штативі вертикально закріпити скляну посудину (1) (рис. 5.2).

Нижню її частину (2) з'єднати гумовою трубкою (3) з градуйованою піпеткою на 1÷2 мл (4). На тому самому штативі під невеликим кутом прикріпити градуйовану піпетку. Скляні частини приладу вимити хромовою сумішшю, залити у нього дистильовану воду. Перевірити, чи працює прилад: у посудину (1) з водою занурити пробірку, при цьому меніск має переміщуватися у піпетці (4). Якщо меніск не рухається, то треба видалити повітря з гумової трубки.

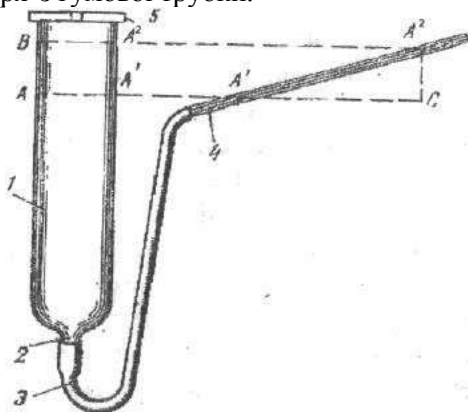


Рис. 5.2. Прилад для визначення об'єму коренів (за Д.А.Сабініним і І. І. Колосовим):

- 1 – циліндрична посудина;
- 2 – відтягнутий кінець посудини; 3 – гумова трубка;
- 4 – градуйована піпетка;
- A – вихідний рівень води в циліндрі;
- B – рівень води в циліндрі після занурення коренів;
- A' – вихідне положення меніска у піпетці;
- B' – положення меніска у піпетці після занурення коренів

2. Рослини, відібрані для аналізу, скласти у пучок, щоб кореневі шийки були на одному рівні. Корені злегка просушити фільтрувальним папером, відзначити положення меніска A' в піпетці (4).

3. Занурити кореневу систему рослин до кореневої шийки у воду. Рівень води у посудині підвищується, і меніск у піпетці підніметься до положення B' .

Примітка. Якщо відстань, яку проходить меніск $A'B'$ незначна, збільшують нахил (кут α) піпетки (4), підвищуючи чутливість приладу.

4. Корені рослин вийняти, зачекати поки вода стече в посудину. *Примітка.* Якщо після стікання води меніск в піпетці буде нижче положення A' , в посудину обережно долити воду, щоб меніск зайняв це положення.

5. На штативі над посудиною закріпити бюретку з дистильованою водою.

6. Воду випустити в посудину, щоб меніск в піпетці зайняв положення B' . Долитий об'єм води з бюретки дорівнюватиме об'ємові кореневої системи досліджуваних рослин.

7. Визначення повторити тричі і обчислити середнє значення об'єму кореневої системи.

8. Результати досліджень записати у таблицю 5.7.

Таблиця 5.7. Визначення об'єму кореневої системи рослин

| Об'єкт дослідження | Порядковий номер визначення | Положення меніску в піпетці, мл | | Кількість доданої води з бюретки, мл | Об'єм кореневої системи, см ³ |
|--------------------|-----------------------------|---------------------------------|------|--------------------------------------|------------------------------------------|
| | | A' | B' | | |
| | 1 | | | | |
| | 2 | | | | |
| | 3 | | | | |
| | середнє | | | | |

Контрольні запитання та завдання

1. Що може негативно вплинути на визначення об'єму кореневої системи за даним методом?

2. Чи можна правильно визначити об'єм корневих систем рослин, вирощених у ґрунтовій культурі?
3. Чи можна за об'ємом корневих систем проростків (наприклад, злаків) прогнозувати продуктивність рослин?
4. Як розрізняються ділянки кореневої системи рослини за кольором?
5. Як можна підвищити чутливість об'ємоміра Д. А. Сабініна та І. І. Колосова?

РОБОТА 25. ВИЗНАЧЕННЯ ЗАГАЛЬНОЇ, РОБОЧОЇ І НЕРОБОЧОЇ АДСОРБЦІЙНОЇ ПОВЕРХНІ КОРЕНЕВОЇ СИСТЕМИ

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

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

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

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

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

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

Матеріали, реактиви, обладнання. 25÷30-добові проростки пшениці, жита, кукурудзи (рослини з мичкуватою кореневою системою), вирощені методом водної культури на повному живильному розчині; 0,0002 н. розчин метиленового синього, 1 н. розчин NaOH, 1 н. розчин H₂SO₄, дистильована вода; склянки, місткість яких дещо більша за розміри кореневої системи дослідних рослин, гумова груша для продування повітря, скляні банки для розчинів луку, кислоти і води, скляні трубки, гумові трубки, склянки, фотоелектроколориметр (ФЕК).

Хід роботи.

1. Відібрати 25÷30 рослин і визначити об'єм їхньої кореневої системи (робота 72). Корені вийняти з води і обережно просушити фільтрувальним папером.

2. У три циліндри налити у 10 разів більше, ніж об'єм коренів, 0,0002 н. розчин метиленового синього. Циліндри пронумерувати, об'єм налитого розчину записати в таблицю 5.9.

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

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

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

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

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

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

7. Отримані результати записати у таблицю 5.8.

8. Об'єм розчину в циліндрах (табл. 5.9) помножити на концентрацію розчинів (табл. 5.8) і обчислити кількість метиленового синього до і після занурення коренів.

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

Таблиця 5.8. Визначення концентрації метиленового синього у стандартному та дослідному розчині

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

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

10. Помножити кількість адсорбованого метиленового синього в міліграмах на 1,1 (1 мг метиленового синього вкриває мономолекулярним шаром 1,1 м² поверхні кореневої системи) та обчислити площу поверхні кореневої системи в квадратних метрах.

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

12. Одержані дані записати у таблицю 5.9.

Таблиця 5.9. Визначення адсорбуючої поверхні коренів

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

13. Кореневу систему після занурення в третій циліндр з метиленовим синім промити у дистильованій воді і занурити в склянку з 0,3 н. розчином CaCl₂.

Примітка. Спостерігають обмінну адсорбцію, йони Ca²⁺

обмінюються на йони метиленового синього, і розчин у циліндрі набуває синього забарвлення.

Контрольні запитання та завдання

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

РОБОТА 26. ВИЯВЛЕННЯ АНТАГОНІСТИЧНОГО ВПЛИВУ ЙОНІВ НА РІСТ І РОЗВИТОК РОСЛИН

Антагонізмом йонів називають таке явище, коли однойменно заряджені йони конкурують між собою під час поглинання їх рослинами. Антагонізм виявлений між йонами однакової та різної валентності. Найбільше він проявляється між одното двовалентними катіонами, наприклад, між калієм і кальцієм.

Антагонізм йонів можна пояснити їхньою конкуренцією за місця адсорбції на поверхні плазмалеми, за переносники й активні центри ферментів, а також протилежною дією на гідратацію білків, в'язкість і проникність цитоплазми тощо.

Чисті солі, взяті ізольовано, дуже шкідливо впливають на рослинний організм. Ті самі солі, але в суміші за певного співвідношення, сприяють процесам росту та розвитку рослин.

Мета роботи. З'ясувати вплив різних йонів на процеси життєдіяльності рослин.

Матеріали, реактиви, обладнання. Проростки злакових; розчини KCl (9 г/л) і CaCl₂ (6,7 г/л) – обидва розчини готують із хімічно

чистих солей на бідистильованій воді, бідистильована вода; кювети місткістю 250÷500 мл, порцелянові чашки, чашки Петрі, піпетки градуйовані, пінцети, ножиці, фільтрувальний папір, олівець по склу, лінійки.

Хід роботи.

1. У порцелянову чашку відібрати 30 однакових проростків і декілька разів промити їх бідистильованою водою.
2. Три кювети обгорнути щільним папером і пронумерувати.
3. У першу кювету налити 200 мл CaCl_2 , у другу – 200 мл KCl , у третю – 100 мл KCl і 100 мл CaCl_2
4. Висадити по 10 рослин у кожен кювету та помістити їх на світло.
5. За тиждень виміряти довжину коренів і надземної частини рослин, середні значення із 10 вимірів записати у таблицю 5.10.

Таблиця 5.10. Вплив йонів K^+ і Ca^{2+} на морфометричні показники проростків рослин

| Варіант досліду | Середня довжина, см | |
|----------------------------|---------------------|---------|
| | надземної частини | коренів |
| KCl | | |
| CaCl_2 | | |
| $\text{KCl}+\text{CaCl}_2$ | | |

6. Зробити висновки щодо дії йонів калію та кальцію на ріст і розвиток проростків.

Контрольні запитання та завдання

1. Що таке антагонізм йонів?
2. Чим пояснити неоднаковий ріст проростків на розчинах окремих солей і на суміші, яка містить одні двовалентні катіони?
3. Які органи рослин найчутливіші до змін йонного складу живильного середовища?
4. Яке значення антогонізму йонів у продуктивності рослин?
5. Як можна послабити антогонізм йонів на ріст рослин?

КОНТРОЛЬНІ ЗАПИТАННЯ ТА ЗАВДАННЯ ДО РОЗДІЛУ «КОРЕНЕВЕ ЖИВЛЕННЯ РОСЛИН»

- 1.** Назвіть основні функції поживних елементів. Як їх класифікують?
- 2.** Що таке методи штучних культур (водних, піщаних, ґрунтових)?
- 3.** Які діагностичні прийоми застосовують для визначення потреб рослин в елементах мінерального живлення?
- 4.** Охарактеризуйте фізіологічне значення елементів-органогенів, макрота мікроелементів для рослин.
- 5.** Яка будова та функції кореня рослини?
- 6.** Як відбувається поглинання поживних речовин кореневою системою?
- 7.** Що таке вибіркова проникність?
- 8.** Назвіть механізми транспортування йонів по рослині?
- 9.** Порівняйте симпластний та апопластний транспорт речовин.
- 10.** Що таке антагонізм, синергізм і адитивність йонів?
- 11.** Яке екологічне значення корневих виділень рослин?
- 12.** Як властивості ґрунту впливають на процес кореневого живлення рослин?
- 13.** Як відбувається надходження поживних речовин до поверхні коренів?
- 14.** Як реагує рослина на концентрацію йонів водню?
- 15.** Що таке «фізіологічно кислі» та «фізіологічно лужні» солі?
- 16.** Назвіть етапи кругообігу азоту в природі.
- 17.** Дайте характеристику основним джерелам азотного живлення вищих рослин?
- 18.** Схарактеризуйте шляхи асиміляції азоту в рослинах.
- 19.** Які ферментні системи беруть участь у відновленні нітратів?
- 20.** Яке значення мають процеси амоніфікації та нітрифікації для живлення рослин?
- 21.** Яким чином можна визначити потреби рослин в елементах живлення?

- 22.** Назвіть фізіологічні основи застосування мінеральних добрив.
- 23.** Що таке гідропоніка й аеропоніка?
- 24.** Які ознаки рослин свідчать про нестачу елементів живлення?
- 25.** Чому мінеральні добрива можуть бути джерелом забруднення довкілля? Яким чином цього можна уникнути?

РОЗДІЛ 7. РІСТ І РОЗВИТОК РОСЛИН

Ріст – це незворотне збільшення розмірів і маси клітин, тканин і органів рослин, пов'язане з новоутворенням елементів їхньої структури. *Розвиток* – це якісні зміни в структурі та життєдіяльності рослин в онтогенезі. З наведених означень зрозуміло, що ріст і розвиток належать до інтегральних процесів, вивчення яких потребує багатогранного підходу, їх слід досліджувати на різних рівнях організації – субклітинному (молекулярному, надмолекулярних комплексів, окремих органел), тканинному, органному та рівні організму. Це можливо у разі застосування сучасних методів молекулярної біології, біохімії, цитології, гістології, імунології, біофізики, фізіології та ін. Лише всебічний аналіз процесів дає можливість проникнути в глибинні механізми росту та розвитку і відкриває можливості регуляції життєдіяльності рослин.

Ріст і розвиток детермінуються генетично та реалізуються під впливом багатоваріантних умов довкілля, фактори якого моделюють експресію геному. Серед них велике значення мають метеорологічні фактори, трофічна, електрофізіологічна і фітогормональна регуляції.

Ріст пов'язаний з локально розташованими твірними тканинами, тому частина лабораторних робіт розділу знайомить студентів із зонами росту рослин і цитологічними особливостями їхніх клітин.

Звернуто увагу на початковий етап онтогенезу рослин

– проростання насіння і методи визначення його життєздатності, явище апікального домінування, геї фототропічні реакції. Низка завдань присвячена вивченню ролі фітогормонів і вегетативному розмноженню рослин. Ці досліді потребують значного інтервалу часу, їх доцільно проводити під час літньої виробничої практики.

РОБОТА 27. ВИЯВЛЕННЯ ЗОН РОСТУ КОРЕНІВ І СТЕБЕЛ МЕТОДОМ ПОЗНАЧОК

Осьові органи рослин ростуть упродовж усього онтогенезу, досягаючи часто значних розмірів, їхній ріст зумовлений

збільшенням кількості та розмірів клітин в апікальній меристемі (у однодольних – в інтеркалярній). Розмір меристемної зони кореня, завдяки якій він подовжується кілька міліметрів. У стеблі ця зона на порядок більша.

Мета роботи. Виявити зони ділення і розтягнення клітин коренів і стебел; на поперечних зрізах порівняти будову коренів у цих зонах, а на поздовжніх – величину клітин.

Матеріали, реактиви, обладнання. Проросле насіння гороху, гарбуза, соняшника, огірків; проростки цих рослин; густа туш, міліметровий папір, лінійки, мікроскопи, безпечні леза, предметні стекла та накривні скельця, препарувальні голки, скляні палички, склянки з кришками, фільтрувальний папір, скляні пластинки.

Хід роботи.

1. Для дослідів відбирають рослини з однаковими корінцями та стеблами.
2. Рослини розміщують на міліметровому папері. Починаючи від апекса, з інтервалом у 1 мм на рослини наносять тушшю позначки. На коренях калібрують 1 см, на стеблах – 2÷3 см.
3. Калібровані рослини закріплюють на скляній пластинці, яку обгортають фільтрувальним папером і ставлять вертикально в камеру, на дно якої наливають тонкий шар води. Камерами можуть слугувати склянки з кришками.
4. Закриті камери ставлять на 24 год. в темне місце за температури 20÷25 °С.
5. За добу визначають ростову зону у коренів і підсім'ядольних колінах проростків (у мм).

Примітка. Роблять поперечні й поздовжні зрізи осьових органів у зонах росту. Зрізи розглядають під мікроскопом у краплі води за малого збільшення. Зарисовують і роблять висновки про будову клітин кореня та стебла у зонах ділення та розтягнення.

Контрольні запитання та завдання

1. Чому поділки, нанесені на апекси коренів і стебел, в різних зонах розходяться нерівномірно?

2. Чим відрізняється ріст стебла в довжину у розцвітих і злакових?
3. Як потовщуються корені однодольних і дводольних рослин?
4. Назвіть рослини, ріст яких відбувається дуже швидко і дуже повільно.
5. Чи можливий вторинний ріст у однодольних рослин ?
6. Чи всі клітини, які містяться в точках росту, однакові за функціональною активністю і значенням у гістогенезі тканин?
7. Яке значення мають „центр спокою” і „меристема очікування” в апексах рослин?

РОБОТА 28. ВИЯВЛЕННЯ ВПЛИВУ ІНДОЛІЛОЦТОВОЇ КИСЛОТИ (ІОК) НА РІСТ ВІДРІЗКІВ КОЛЕОПТИЛІВ ВІВСА

Ауксини належать до фітогормонів, які необхідні на всіх фазах росту клітини: ділення, розтягнення та диференціації. Разом із гіберелінами вони регулюють процеси розтягнення клітин. Стимулюючий ефект ауксинів виявляється за незначних концентрацій, тоді як високий вміст фітогормону може зумовити гальмування ростових процесів.

Мета роботи. Дослідити вплив різних концентрацій ауксину (індолілоцтової кислоти – ІОК) на ростові процеси в фазі розтягнення клітин, використовуючи як біотест колеоптилі вівса.

Матеріали, реактиви, обладнання. Проросле насіння вівса, довжина колеоптилів якого не менша за 1,5 см (100±200 шт.); дистильована вода, 2 %-й розчин сахарози, розчин ІОК (1 г на 1 л); шість пробірок у штативі, шість чашок Петрі з кришками, градуйовані піпетки на 5 і 10 мл, різак для нарізання колеоптилів, пензлик.

Виготовлення розчину ІОК. 0,3 г ІОК розчиняють в 0,5 мл етанолу. Розчин розбавляють водою до 100 мл, нагрівають до 80 °С 5 хв., після чого об'єм його доводять до 250 мл.

Хід роботи.

1. У шість пронумерованих пробірок наливають по 18 мл 2%-го розчину сахарози, необхідної як джерело енергії.
2. У першу пробірку наливають 2 мл розчину ІОК, збовтуючи її вміст. Чистою піпеткою з неї беруть 2 мл розчину і вносять його в другу пробірку. З другої пробірки теж відбирають 2 мл і вливають у третю пробірку. Операцію повторюють. У шосту (контрольну) пробірку наливають 2 мл води. Таким чином готують розчини п'яти концентрацій індолілоцтової кислоти.
3. Виготовлені розчини і воду наливають у шість чашок Петрі, в які пензликом вносять по 10 декапітованих (без апексів) колеоптилів завдовжки 10 мм. Верхівки їх відрізають, щоб природні ауксини, які синтезуються в них, не впливали на ріст. Колеоптилі зручно нарізати спеціальним різакон, відступаючи 3 мм від верхівок.
4. Чашки накривають кришками і залишають у темряві на 3 дні за температури 25 °С.
5. За три дні вимірюють довжину колеоптилів. Результати записують у таблицю 7.1. Будують графік залежності довжини колеоптилів (відкладають дані на осі ординат) від концентрації ауксину (вісь абсцис). Дані дослідів обробляють статистично і роблять висновок про вплив різних концентрацій ІОК на ріст колеоптилів.

Таблиця 7.1. Вплив ІОК на ріст колеоптилів вівса

| Номер чашки | Довжина колеоптилів, | | Приріст колеоптилів, мм |
|-------------|----------------------|---------|-------------------------|
| | початкова | кінцева | |
| | | | |

Контрольні запитання та завдання

1. Чи однаково реагують на концентрації ауксину стебла і корені?
2. Який механізм впливу ІОК на ріст клітин у фазі розтягнення?
3. Як відрізняється дія ауксину у фазі розтягнення клітин від дії гібереліну?
4. Які зміни в структурі клітин відбуваються під час їхнього розтягнення?

5. Як реагують на ІОК наземні та водні рослини?
6. Чи реагують на ІОК водорості?
7. Хто з українських вчених досліджував як реагують на фітогормони рослини багатьох видів?

РОБОТА 29. ВПЛИВ ІНДОЛІЛОЦТОВОЇ КИСЛОТИ НА РИЗОГЕНЕЗ (УКОРІНЕННЯ) ЖИВЦІВ

Одним із яскраво виражених ефектів ауксину є стимуляція ризогенезу на живцях. У разі обробки їх розчинами ІОК або її синтетичних аналогів індукується закладання додаткових коренів. Концентрація розчину та тривалість обробки залежать від виду рослин і стану живців. Для зелених пагонів використовують менші концентрації та менші експозиції обробки. Фізіологічно активні концентрації β -індолілоцтової кислоти, які використовують у рослинництві, коливаються в межах 10÷20 мг/л, а тривалість дії – 6÷48 год.

Мета роботи. Дослідити вплив різних концентрацій ІОК на індукцію ризогенезу у рослин; встановити залежність між концентрацією фітогормону та тривалістю дії його на укорінення рослин.

Матеріали, реактиви, обладнання. Живці різних рослин (традесканції, пеларгонії, хризантеми, троянди та ін.), 12-денні проростки квасолі; розчини індолілоцтової кислоти – 10, 25, 50 і 100 мг/л; порцелянові склянки місткістю 200 мл; скальпелі, безпечні леза.

Хід роботи.

1. У чотири склянки наливають 80÷100 мл розчинів ІОК різних концентрацій, а в контрольну – водогінну воду.
2. Свіжозрізані або з поновленими під водою зрізами живці витримують у склянках три години і більше.
3. Живці виймають через різні інтервали часу, залежно від

варіанта досліду, змивають водогінною водою і ставлять на укорінення (у воду або в кювети з піском).

4. Спостерігають за ризогенезом на живцях. Роблять висновки про вплив ауксину на ризогенез живців, а також про залежність укорінення від концентрації та тривалості обробки ІОК.

Примітка. Цю роботу проводять під час літньої виробничої практики. Для дослідів використовують зелені та здерев'янілі живці.

Контрольні запитання та завдання

1. Які фізіологічні показники свідчать про вплив ІОК на ризогенез у рослин?
2. У якій тканині закладаються додаткові корені?
3. Чи може ІОК гальмувати ризогенез?
4. Чи є зв'язок між розвитком кореневих систем і продуктивністю рослин?
5. Чи можна тестувати продуктивність рослин за розвитком кореневої системи у проростків?
6. Ауксини – це речовини природного чи синтетичного походження?

РОБОТА 30. АПІКАЛЬНЕ ДОМІНУВАННЯ У РОСЛИН

Під апікальним домінуванням розуміють корелятивне гальмування бічних бруньок верхівковою (апикальною). Це явище значною мірою залежить від ауксину, який синтезується у верхівковій бруньці і базипетально транспортується по стеблу. Для пояснення апікального домінування запропоновано кілька гіпотез: ріст бічних пагонів гальмується ауксином, який надходить з апексу; під впливом ІОК синтезується інгібітор, який і гальмує розвиток бічних пагонів; апікальна брунька, збагачена на ауксин, атрагує (притягує) поживні речовини, внаслідок чого бічні бруньки не отримують їх у достатній кількості.

Мета роботи. Дослідити на різних рослинах, що верхівкова брунька гальмує розвиток бічних; показати значення ауксину в

цьому процесі.

Матеріали, реактиви, обладнання. Рослини гороху, помідорів, квасолі, картоплі та інші, ланолінова паста з ІОК (дослідна) та водна ланолінова паста (контрольна), безпечні леза.

Хід роботи.

1. Вибирають рослини гороху однакової висоти (20 см).
2. У дослідних рослин зрізають верхівку.
3. На одні зрізи наносять пасту з ІОК, а на інші – ланолінову пасту з водою.
4. Рослини виставляють на світло і щоденно поливають їх. На світло виставляють також контрольні рослини з незрізаними апексами.
5. За кілька днів рослини обстежують. Аналізують і записують у протокол. Роблять висновки про вплив ауксину на розвиток бічних бруньок.

Контрольні запитання та завдання

1. Поясніть, чому не можна спостерігати апікальне домінування у злаків.
2. Як впливає ІОК на ростові процеси в апікальній меристемі?
3. Синтез якого фітогормона-інгібітора стимулює β -індолілоцтова кислота?
4. Де на практиці використовують ауксини?

РОБОТА 31. ВПЛИВ ЕТИЛЕНУ НА РОСТОВІ ПРОЦЕСИ У РОСЛИН

Етилен характеризується широким спектром фізіологічної дії на рослини. Він гальмує ріст проростків у довжину, порушує нормальне ортотропне положення рослин, сприяє потовщенню стебел, опаданню листків і плодів, старінню тканин, зумовлює епінастію листків, стимулює витікання латексу з молочників гевеї тощо. Усі ці та інші

ефекти етилен зумовлює за дуже низької концентрації (1 частина газу на 1000000 частин повітря). Біосинтезу його в тканинах сприяють стресові фактори.

Мета роботи. Виявити вплив етилену на ростові процеси у рослин, показати значення в цих процесах ІОК.

Матеріали, реактиви, обладнання. Етіюльовані 5÷6-добові проростки гороху, кінських бобів, люпину; скляні ковпаки з скляними пластинками-підставками; світільний газ або дозрілі яблука, ланолінова паста з водою, ланолінова паста з 0,01%-ю ІОК.

Хід роботи.

1. Вирощені в темряві проростки рослин ставлять на скляні пластинки, які зверху накривають скляними ковпаками. Для кращого прилягання ковпака до пластинки знизу його змазують вазеліном.

2. Проводять чотири варіанти досліду:
контрольний варіант під ковпаком містяться рослини і звичайне повітря;

другий варіант – під ковпак ставлять етіюльовані проростки, але під нього кладуть кілька дозрілих яблук, які виділяють етилен. Можна замість яблук впустити під ковпак трохи світільного газу;

третій варіант – все роблять так само як в другому варіанті, але у рослин видаляють верхівки і на них наносять водну ланолінову пасту;

четвертий варіант – на декапітовані рослини наносять ланолінову пасту з 0,01 %-ою ІОК. Далі все роблять, як у другому варіанті.

3. Рослини усіх варіантів досліду на 1÷2 тижні ставлять у темряву. Спостерігають за ростовими процесами (вимірюють висоту та діаметр стебел проростків). Результати вимірювань параметрів стебел записують в таблицю 7.3.

4. Після закінчення досліду виготовляють поперечні й поздовжні зрізи стебел контрольних і дослідних рослин, порівнюють їхню анатомічну будову. Зарисовують препарати.

5. Роблять висновки про вплив етилену на рослини і значення ауксину в цих процесах.

Таблиця 7.3. Вплив етилену на ростові процеси у рослин

| Варіант дослідж. | Довжина стебла | | Діаметр стебла, мм | |
|---------------------|----------------|-----------|--------------------|-----------|
| | за 7 ліб | за 14 ліб | за 7 ліб | за 14 ліб |
| | | | | |
| | | | | |

Контрольні запитання та завдання

1. Чому для дослідження впливу етилену на ростові процеси у рослин використовують етіюльовані проростки?
2. Як етилен впливає на геотропічне подразнення у рослин?
3. Як етилен впливає на декапітовані проростки?
4. Чи є зв'язок між біосинтезом етилену та вмістом у тканинах ауксину?
5. Назвіть синтетичні продуценти етилену, які використовують у рослинництві.
6. Для регулювання яких процесів у рослин використовують етилен?

РОБОТА 32. СПОСТЕРЕЖЕННЯ ЗА ФОТОТРОПІЧНОЮ РЕАКЦІЄЮ РОСЛИНИ

Фототропізм – ріст стебла рослин у напрямі одностороннього освітлення внаслідок нерівномірного росту освітленої і затіненої його сторін. Це пов'язано з неоднаковим балансом фітогормонів на різних боках рослини.

Мета роботи. Виявити вплив однобічного освітлення на ріст стебла, дослідити вплив верхівки колеоптиля на цей процес.

Матеріали, реактиви, обладнання. Молоді (4÷5-добові) проростки злаків та інших рослин, станіоль для ковпачків, фототропічна камера.

Хід роботи.

1. Усі проростки ділять на три групи.
2. Верхівки третини проростків накривають станіольовими ковпачками, розміром до 1 см. Виготовляють їх так: маленький шматочок станіолію завширшки 1 см закручують на сірнику або на тоненькій паличці та скручують зверху.
3. У проростків другої третини зрізають 0,5÷1,0 см верхівки колеоптилів.
4. Решту рослин залишають для контролю.
5. Горщик з проростками ставлять поблизу лампи для однобічного освітлення.
6. За 45÷60 хв. спостерігають за напрямом росту проростків. Роблять висновки про місце сприйняття світлового сигналу у молодих проростків злаків.

Примітка. Типове явище фототропізму можна продемонструвати також на рослинах, які ростуть на вікні або в глибині кімнати. Усі листкові пластики у таких рослин обернені до світла.

Контрольні запитання та завдання

1. Схарактеризуйте механізм фототропічного руху? Яке значення цього руху для рослин?
2. Якою частиною сприймають світлові подразнення проростки злаків?
3. Назвіть рослини, яким властива фототропічна реакція.
4. Фітогормони якого класу беруть участь у фототропізмі?
5. Як розподіляється заряд на освітленому і затемненому боках стебла?
6. Чи відбуваються під час фототропізму електрокінетичні реакції на поверхневих мембранах клітин?

РОБОТА 33. СПОСТЕРЕЖЕННЯ ЗА ГЕОТРОПІЧНОЮ РЕАКЦІЄЮ РОСЛИНИ

Корінь рослини проявляє позитивний геотропізм, а стебло – негативний. Це явище пов'язане з впливом на рослини сили земного тяжіння, яке сприймається, згідно з сучасними дослідженнями,

кореневим чохлаком. У горизонтально розміщеного проростка корінь загинається вниз, а стебло – догори. Це визначається гормональним статусом нижньої і верхньої частин проростка.

Мета роботи. Дослідити залежність росту осьових органів рослини від сили земного тяжіння.

Матеріали, реактиви, обладнання. Скляні банки, скло для їх закривання, скляні пластинки, на яких закріплюються проростки, фільтрувальний папір, проростки гороху, кінських бобів та інших рослин.

Хід роботи.

1. Квадратну скляну пластинку обгортають папером і прикріплюють до неї в нормальному положенні (кінчиками вниз) кілька пророслих насінин.
2. На дно скляної банки наливають трохи води і ставлять у неї вертикально квадратну пластинку з рослиною. Банку закривають зверху склом.
3. Коли корінці виростуть на 8÷10 см, квадратну пластинку з насінням повертають на 180° і спостерігають за напрямом росту кореня та стебла.
4. Роблять висновки про геотропічну реакцію кореня та стебла.

Контрольні запитання та завдання

1. Як продемонструвати наявність геотропічних згинів кореня та стебла?
2. Яка причина різної реакції кореня та стебла на вплив земного тяжіння?
3. Чи відбувається геотропізм у багаторічних рослин?
4. Які досліди підтверджують участь кореневого чохлака у геотропічній реакції кореня?

КОНТРОЛЬНІ ЗАПИТАННЯ ТА ЗАВДАННЯ ДО РОЗДІЛУ “РІСТ І РОЗВИТОК РОСЛИН”

1. Назвіть етапи онтогенезу рослинної клітини.
2. Назвіть етапи життєвого циклу вищих рослин.
3. Назвіть типи росту рослин. Що зумовлює різноманітність типів росту?
4. Що таке адвентивний ріст? Які структури називають адвентивними?
5. Що таке корелятивний ріст? Наведіть приклади практичного використання корелятивного росту.
6. Як змінюється швидкість росту з часом? Схарактеризуйте велику криву росту.
7. Поясніть, що таке періодичність росту, циркадна ритміка, біологічний годинник.
8. Поясніть явище полярності у рослин.
9. Назвіть системи регуляції морфогенезу рослин на рівні клітини і цілого організму.
10. Яке значення гормональної системи регуляції для багатоклітинних рослинних організмів?
11. Що таке фітогормони? Назвіть класи фітогормонів.
12. Які речовини є попередниками фітогормонів?
13. Назвіть основні прояви фізіологічної дії ауксинів, цитокінінів, гіберелінів, а також абсцизової кислоти та етилену.
14. Що таке фотоперіодизм? Яка функція фотоперіоду в регуляції росту і розвитку рослин?
15. Наведіть приклади рослин довгого і короткого дня та нейтральної групи.
16. Які ймовірні механізми дії фітохрому?
17. Як впливає температура на перехід рослин до цвітіння? Що таке яровизація?
18. Назвіть основні положення гормональної теорії цвітіння.
19. Поясніть участь фітохрому та біологічного годинника в індукції цвітіння.
20. Які процеси лежать в основі рухів рослин?
21. Сформулюйте основні положення гормональної теорії тропізмів.
22. Що таке настичні рухи?

23. Назвіть ймовірні механізми настій.
24. Що таке таксиси?
25. Назвіть основні форми розмноження рослин.
26. Назвіть основні стимулятори росту рослин природного та синтетичного походження. Як вони застосовуються на практиці?
27. Чому в рослинництві частіше використовують синтетичні, а не природні регулятори росту?

ЛІТЕРАТУРА:

1. Макрушин М. М., Макрушина Є. М., Петерсон Н. В., Мельников М. М. Фізіологія рослин. /За редакцією професора М. М. Макрушина. Підручник. – Вінниця: Нова Книга, 2006. – 416 с.
2. Мусієнко М. М. Фізіологія рослин: Підручник. 2-ге видання, доповнене і перероблене - К.: Либідь, 2005. - 808 с.
3. Фізіологія рослин: практикум / О.В. Войцехівська, А.В. Капустян, О.І. Ко- сик та ін. За заг.ред. Т.В. Паршикової – Луцьк: Терен, 2010. – 420 с.
4. Брайон О.В. Фізіологія рослин: практикум. / О.В.Брайон, В.Г.Чикаленко, П.С. Славний. – К.: Вища школа, 1995. – 96 с.