

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ТАВРІЙСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ АГРОТЕХНОЛОГІЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ДМИТРА МОТОРНОГО

Максим Колесніков,
Юлія Пащенко

БІОХІМІЯ ТА ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН МАЛИЙ ПРАКТИКУМ:

Навчально-методичний посібник

Мелітополь
2022

УДК 581.1 (076.5)

Б 27

*Рекомендовано до друку рішенням Вченої ради
факультету агротехнологій та екології
Таврійського державного агротехнологічного університету
імені Дмитра Моторного
як навчально-методичний посібник для здобувачів ступеня вищої освіти
«Бакалавр» зі спеціальностей 201 «Агрономія», 203 «Садівництво та
виноградарство» (на основі повної загальної середньої освіти)
(протокол № 8 від 10.05.2022 року).*

Рецензенти:

Олеся ПРИС, доктор технічних наук, професор кафедри харчових технологій та готельно-ресторанної справи Таврійського державного агротехнологічного університету імені Дмитра Моторного

Анна ШКІНДЕР-БАРМІНА, кандидат с.-г.наук, доцент кафедри плодовоовочівництва, виноградарства та біохімії Таврійського державного агротехнологічного університету імені Дмитра Моторного, науковий співробітник Мелітопольської дослідної станції садівництва ім. В.Ф. Сидоренка НААН України

Біохімія та фізіологія рослин. Малий практикум: навчально-методичний посібник / М.О. Колесніков, Ю.П. Пащенко. – Мелітополь : ТДАТУ, 2022. – 226 с.

Зміст видання відповідає освітньо-професійній програмі зі спеціальностей 201 «Агрономія» та 203 «Садівництво та виноградарство» та програмі навчальної дисципліни «Біохімія та фізіологія рослин». У навчально-методичному посібнику наведені лабораторні роботи, що охоплюють основні розділи фізіології рослин (фізіологія рослинної клітини, фотосинтез, дихання рослин, водний режим, мінеральне живлення, ріст та розвиток рослин, фізіологія стійкості та біохімії рослин (вуглеводи, амінокислоти і білки, ліпіди, ферменти, речовини вторинного походження). Для засвоєння практичного матеріалу на початку робіт наведені теоретичні відомості, а в кінці кожного розділу контрольні питання та тестові завдання. Виконання завдань практикуму сприятиме поглибленню знань здобувачів вищої освіти з теоретичної частини курсу та надбанню практичних навичок науково-дослідної роботи з фізіології та біохімії рослин. Рекомендовано здобувачам ступеня вищої освіти «Бакалавр» агробіологічного профілю.

УДК 581.1(076.5)

© М.О. Колесніков, Ю.П. Пащенко 2022

ЗМІСТ

ВСТУП.....	7
РОЗДІЛ І. БІОХІМІЯ РОСЛИН	
	7
ТЕМА. АМІНОКИСЛОТИ. БІЛКИ	
Робота № 1. Виділення рослинних білків	9
Робота № 2. Якісне визначення білків та амінокислот у рослинних об'єктах	12
Робота № 3. Дослідження фізико-хімічних властивостей білків	19
Робота № 4. Колориметричний метод визначення вмісту легкокорозчинного білку (за Лоурі)	22
Робота № 5. Фотометричний метод визначення вмісту амінного азоту	24
Контрольні запитання до теми «Амінокислоти. Білки».....	25
Тестові завдання до теми «Амінокислоти. Білки».....	27
ТЕМА. ВУГЛЕВОДИ	
Робота № 1. Виділення вуглеводів з рослинних тканин	31
Робота № 2. Якісне визначення вуглеводів в рослинних тканинах	34
Робота № 3. Ферментативний гідроліз крохмалю	38
Контрольні запитання до теми «Вуглеводи».....	40
Тестові завдання до теми «Вуглеводи».....	42
ТЕМА. ЛІПІДИ	
Робота № 1. Якісні реакції на жирні олії	44
Робота № 2. Визначення кислотного числа рослинної олії	46
Робота № 3. Визначення йодного числа рослинної олії	48
Робота № 4. Визначення числа омилення та числа ефірності рослинної олії	49
Робота № 5. Визначення загального вмісту ліпідів	51
Контрольні запитання до теми «Ліпіди».....	52
Тестові завдання до теми «Ліпіди».....	53
ТЕМА. ФЕРМЕНТИ	
Робота № 1. Визначення активності каталази за методом Баха ...	55
Робота № 2. Визначення активності амілаз в проростаючих зернівках злакових культур	57
Робота № 3. Визначення ліполітичної активності насіння	59
Робота № 4. Визначення активності протеолітичних ферментів .	61

Контрольні запитання до теми «Ферменти».....	63
Тестові завдання до теми «Ферменти».....	64
ТЕМА. РЕЧОВИНИ ВТОРИННОГО ПОХОДЖЕННЯ	
Робота № 1. Визначення вмісту органічних кислот	66
Робота № 2. Визначення сумарного вмісту фенольних сполук...	68
Робота № 3. Вплив рН середовища на зміну забарвлення антоціанів	70
Робота № 4. Загальні якісні реакції на алкалоїди	71
Контрольні запитання до теми «Речовини вторинного походження».....	75
Тестові завдання до теми «Речовини вторинного походження»	76

РОЗДІЛ II. ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН

ТЕМА. ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИННОЇ КЛІТИНИ

Робота № 1. Порівняння проникності клітинних мембран для різних речовин. Стійкий і тимчасовий плазмоліз.....	77
Робота № 2. Вплив іонів калію й кальцію на форму плазмолізу...	79
Робота № 3. Проникність живої і мертвої цитоплазми.....	80
Робота № 4. Д і а г н о с т и к а т е р м і ч н о г о пошкодження мембран клітин столового буряка за збільшенням їх проникності.....	82
Робота №5. Виявлення життєздатності насіння методом фарбування (за Д.Н. Нелюбовим).....	84
Контрольні запитання до теми «Фізіологія рослинної клітини».....	86
Тестові завдання до теми «Фізіологія рослинної клітини».....	87

ТЕМА: ФІЗІОЛОГІЯ ФОТОСИНТЕЗУ

Робота № 1. Одержання спиртового розчину (витяжки) пігментів.....	91
Робота № 2. Методи розділення суміші фотосинтетичних пігментів.....	93
Робота № 3. Спостереження за явищем флуоресценції хлорофілу.....	96
Робота № 4. Визначення концентрації хлорофілу та каротиноїдів на спектрофотометрі СФ-26	98
Робота № 5. Одержання відбитків на листах за допомогою	103

крохмальної проби.....	
Робота № 6. Вплив зовнішніх умов на інтенсивність фотосинтезу водної рослини.....	105
Робота № 7. Визначення чистої продуктивності фотосинтезу.....	107
Робота № 8. Розрахунок фотосинтетичного потенціалу фітоценозу (посіву).....	110
Контрольні питання до теми «Фізіологія фотосинтезу».....	112
Тестові завдання до теми «Фізіологія фотосинтезу».....	114
Задачі.....	118
ТЕМА: КЛІТИННЕ ДИХАННЯ	
Робота № 1. Визначення дегідрогеназ у рослинах	119
Робота № 2. Визначення інтенсивності дихання насіння у закритій судині.....	121
Робота № 3. Визначення дихального коефіцієнта проростаючого насіння.....	123
Контрольні питання до теми «Клітинне дихання».....	125
Тестові завдання до теми «Клітинне дихання».....	127
Задачі.....	129
ТЕМА: ВОДНИЙ ОБМІН РОСЛИН	
Робота № 1. Визначення вмісту води та сухої речовини у рослинному матеріалі.....	131
Робота № 2. Визначення осмотичного тиску клітинного соку методом плазмолізу.....	133
Робота № 3. Визначення водного потенціалу рослинних тканин методом Уршпрунга.....	136
Робота № 4. Дослідження явища тургору.....	137
Робота № 5. Визначення інтенсивності транспірації зрізаних листів за допомогою торзійних терезів по Л. І. Іванову.....	139
Робота № 6. Вивчення стану продихів методом відбитків по Полаччі.....	141
Робота № 7. Порівняння транспірації верхньої і нижньої сторін листа хлоркобальтовим методом (по Шталю).....	142
Робота № 8. Підняття води в рослині по судинах.....	144
Контрольні питання до теми «Водний обмін рослин».....	145
Тестові завдання до теми «Водний обмін рослин».....	146
Задачі.....	150
ТЕМА: МІНЕРАЛЬНЕ ЖИВЛЕННЯ РОСЛИН	
Робота № 1. Визначення вмісту золи в різних органах рослин та мікрохімічний аналіз золи.....	151

Робота № 2. Вивчення впливу елементів живлення на ріст рослин.....	154
Робота № 3. Виявлення нітратів в рослинах.....	158
Робота № 4. Визначення об'єму кореневої системи.....	162
Контрольні питання до теми «Мінеральне живлення рослин».....	164
Тестові завдання до теми «Мінеральне живлення рослин»....	166
Задачі.....	169
ТЕМА: ФІЗІОЛОГІЯ РОСТУ ТА РОЗВИТКУ РОСЛИН	
Робота № 1. Вплив світла на ріст рослин.....	171
Робота № 2. Визначення зон росту в органах рослин.....	172
Робота № 3. Вплив гібереліну на ріст карликових сортів рослин.....	174
Робота № 4. Пошкодження бруньок як спосіб ранньої вигонки рослин.....	176
Робота № 5. Скарифікація насіння.....	177
Робота № 6. Тропізми рослин.....	178
Контрольні питання до теми «Фізіологія росту та розвитку рослин».....	180
Тестові завдання до теми «Фізіологія росту та розвитку рослин».....	182
ТЕМА: СТІЙКІСТЬ РОСЛИН	
Робота № 1. Кріопротекторна дія цукрів на протоплазму.....	185
Робота № 2. Визначення жаростійкості рослин (за Мацковим)..	187
Робота № 3. Визначення посухостійкості рослин пророщенням насіння на розчинах сахарози.....	188
Робота № 4. Визначення посухостійкості рослин методом крохмальної проби.....	189
Робота № 5. Визначення солестійкості злаків за схожістю їх насіння.....	190
Контрольні питання до теми «Стійкість рослин».....	192
Тестові завдання до теми «Стійкість рослин».....	193
ТЕРМІНОЛОГІЧНИЙ СЛОВНИК.....	197
ДОДАТКИ.....	201
РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА.....	217

ВСТУП

Сучасна *фізіологія рослин* - це міждисциплінарна інтегративна наука про функціональну активність рослинних організмів і механізми процесів рослинних систем різних рівнів їх організації. Фізіологія рослин вивчає закономірності життя рослин і розробляє шляхи керування ними з метою оптимізації продуктивності культурних рослин, збереження і процвітання рослинного світу планети. Основні фізіологічні процеси, що відбуваються в рослинах, цілком підкоряються законам фізики і хімії. Усю сукупність хімічних процесів, які складають життєдіяльність рослин, вивчає *біохімія рослин*.

Даний навчально-методичний посібник прикликаний допомогти студентам при виконанні лабораторних робіт з дисципліни «Біохімія та фізіологія рослин» та сприяти засвоєнню студентами загальних закономірностей життєвих функцій рослин, формуванню уявлень про структурно-функціональну організацію рослинних систем.

Навчально-методичний посібник складений у відповідності до програми з дисципліни «Біохімія та фізіологія рослин» для підготовки бакалаврів в аграрних вищих навчальних закладах II – IV рівнів акредитації за спеціальністю 201-Агрономія та 203-Садівництво та виноградарство.

Навчально-методичний посібник охоплює всі основні розділи курсу фізіології та біохімії рослин. Кожна лабораторна робота містить мету, перелік необхідних реактивів та обладнання, опис дослідів, контрольні питання за темою. Для оформлення результатів приводяться таблиці та формули для розрахунків. До всіх робіт пропонується робити науково обґрунтовані висновки. Перед початком проведення лабораторних робіт студенти ознайомлюються з технікою безпеки в лабораторії. В ході заняття студенти оформлюють роботу за схемою:

1. Тема заняття.
2. Назва та номер лабораторної роботи.
3. Мета роботи.
4. Порядок проведення дослідів.
5. Опис та обговорення результатів.

6. Висновки.

Після проведення лабораторних дослідів викладач проводить опитування по темі заняття за контрольними запитаннями. Результати оцінювання заносяться до журналу обліку успішності студентів.

В результаті проведення лабораторних занять студенти повинні уміти:

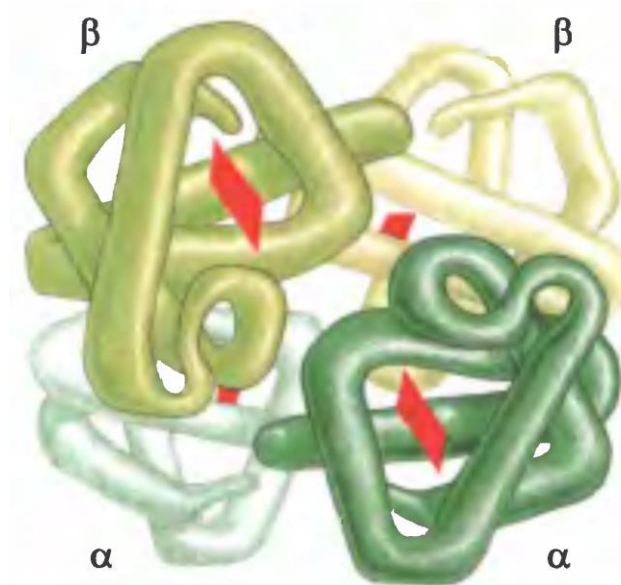
- сформулювати мету експерименту;
- провести підготовчі та основні операції під час проведення фізіологічного або біохімічного експерименту;
- самостійно провести спостереження, пояснити їх та зробити обґрунтовані висновки;
- використати знання і навички, отримані на лабораторних заняттях для рішення дослідницьких та виробничих задач, а також для розробки заходів оптимізації умов використання рослинами факторів їх життя та ресурсів господарства.
- на основі отриманих знань вміти контролювати продукційний процес посіву, прогнозувати хід та управляти формуванням врожаю за допомогою біохімічних та фітометричних показників посіву.

РОЗДІЛ І

БІОХІМІЯ РОСЛИН

ТЕМА

АМІНОКИСЛОТИ. БІЛКИ



РОБОТА № 1

Виділення рослинних білків

Амінокислоти — це азотовмісні органічні сполуки, молекули яких одночасно містять аміногрупу $-NH_2$ та карбоксильну групу $-COOH$, і вуглецевий скелет. **Амінокислоти**, що містяться в рослинному організмі, поділяють на дві групи:

1) - протеїногенні амінокислоти, що входять до складу білкових молекул, їх 20 амінокислот, що синтезуються рослинами;

2) - непротеїногенні амінокислоти, що як правило, знаходяться у вільному стані в цитоплазмі, або входять до складу пептидів; відомо вже понад 200 непротеїногенних амінокислот.

Амінокислоти в рослинному організмі виконують різноманітні функції. За їхньої участі відбувається біосинтез всіх азотистих сполук - білків, пептидів, амінів, амідів, алкалоїдів, а також багатьох інших речовин вторинного походження - хлорофілів, ціаногенних глікозидів,

аміноцукрів, бетаїнів, фенольних сполук, вітамінів і коферментів, пуринових і піримідинових основ, фітогормонів та інших речовин. Деякі вільні амінокислоти (аспартат, глутамат і аргінін) є головною транспортною і запасною формою азоту в рослині. Так звані "стресові" амінокислоти - пролін, аланін, дикарбонові та їх амідні беруть участь у неспецифічних адаптаційних реакціях рослинного організму за дії стресора будь-якої природи.

Білкові речовини є високомолекулярними біополімерами, первинна структура яких утворена поліпептидними ланцюжками, побудованими з різних α -амінокислот, з'єднаних між собою пептидними зв'язками. Молекулярна вага білків може досягати кількох мільйонів.

Близько 25-30% всієї потреби організму в білках покривається за рахунок продуктів переробки зерна. У насінні злаків міститься 10-20 % білка, у насінні бобових та олійних культур 25-50 %. Саме білкові речовини визначають технологічні властивості муки, її здатність давати високоякісний хліб та макаронні вироби, а також визначають цінність різних круп.

Основна маса протоплазми живих клітин складається з білків. Ферменти, багато гормонів також мають білкову природу. В білках окрім вуглецю, водню і кисню, завжди міститься азот, іноді фосфор і майже завжди сіра. Молекулярна маса білкових речовин може досягати декількох мільйонів. Найвищими кількісними показниками вмісту білку характеризується насіння бобових і олійних культур, наприклад: гороху, квасолі, соняшнику.

Білки рослин розділяють на групи за розчинністю в різних речовинах:

- **альбуміни** - (добре розчинні у воді);
- **глобуліни** - (добре розчинні в слабому розчині солей);
- **проламіни** - (добре розчинні в спирті);
- **глутеліни** - (добре розчинні в слабому розчині луку).

Мета роботи: виділити різні класи білків з рослинних зразків.

Матеріали і обладнання: пшеничне і горохове борошно; кристалізатори; 70% розчин етилового спирту; 0,2% розчин їдкового натру; 1% розчин CuSO_4 ; концентрована азотна кислота; аміак; реактив Мілону; 40% розчин їдкового натру; насичений розчин $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb}$; 10% розчин $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; фільтри; лійки; пробірки в штативах; 10% розчин NaCl .

Порядок виконання роботи

Отримання проламінів і глютелінів з насіння пшениці

100 г пшеничного борошна замішують з 50 мл дистильованої води в густе тісто і грудку цього тіста обережно промивають в проточній воді. Промивання ведуть до тих пір, поки вода не перестане каламутіти від крохмалю. У складі отриманої клейковини знаходяться 2 білки: *гліадин* (з групи проламінів) і *глютенін* (з групи глютелінів). Клейковину ділять на дві проби.

Першу пробу для екстракції гліадину розчиняють в 70% спирті, а другу, що служить для екстракції глютеніну, - в 0,2% розчині NaOH.

З кожною пробую можна здійснювати якісні реакції на білки.

Отримання альбумінів з бульб картоплі

100 г бульб картоплі розтирають в ступці до гомогенного стану з 50 мл дистильованої води. Макуху віджимають через 2-3 шари марлі, а рідину фільтрують через паперовий складчастий фільтр, і фільтрат використовують для визначення альбумінів, проте перед цим відділяють альбуміни від всієї решти водорозчинних речовин: моно- і олігосахарів, крохмалю і ін. Для цього білки спочатку висолюють $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ до повного насичення, а потім розчиняють отриманий осад альбумінів в 5 мл дистильованої води (до 20 мл фільтрату додають 10 г $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, потім центрифугують розчин при 10 000 г, осад розчиняють в 5 мл дистильованої води). З отриманим розчином альбуміну здійснюють якісні реакції на білки.

Отримання глобулінів з насіння гороху

20 г горохового борошна засипають в колбу і заливають 50 мл 10% розчину $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Колбу закривають пробкою, струшують 10 хвилин на ротаторі і залишають стояти. Білок з групи глобулінів леугмін, що знаходиться в гороховому борошні, переходить в розчин.

Через 30 хвилин розчин фільтрують крізь складчастий фільтр, змочений розчином цієї ж солі.

Щоб переконатися в тому, що даний білок не розчиняється у воді, наливають в пробірку 1 мл отриманого розчину білка і надлишок води, з'являється муть внаслідок випадання глобуліну в осад. Якщо додати слабкий розчин нейтральної солі $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ або NaCl, муть зникне.

Завдання: описати хід роботи, зробити висновки на підставі проведених якісних реакцій на білки.

РОБОТА № 2

Якісне визначення білків та амінокислот у рослинних об'єктах

Все різноманіття білків побудоване з α -амінокислот. Загальна кількість α -амінокислот, що входять до їх складу, близько до 70. Серед них виділяється група з 20 найважливіших α -амінокислот, що постійно зустрічаються у всіх білках. Амінокислоти – кристалічні речовини, розчинні у воді. В твердому стані – амінокислоти існують у вигляді біполярного йону. α -Амінокислоти – гетерофункціональні сполуки, що містять карбоксильну групу і аміногрупу біля одного і того ж α -атома Карбону.

Кольорові реакції широко використовуються для встановлення білкової природи речовини, вивчення амінокислотного складу різноманітних природних білків і пептидів, для ідентифікації індивідуальних амінокислот. Більшість із них чутливі й високоспецифічні, що дозволяє відкривати незначні кількості білків, тієї або іншої амінокислоти в гідролізатах білків, у біорідинах і тканинах організму.

Загальна якісна реакція α -амінокислот – це реакція з нінгідрином, а для білків – біуретова реакція. Існує також ряд реакцій, що дозволяють виявити окремі α -амінокислоти або групи споріднених α -амінокислот

Мета роботи: ознайомитися та набути вміння виконувати різні якісні реакції визначення білків та амінокислот у рослинних тканинах.

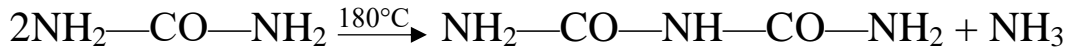
Матеріали і обладнання: розчин білкової витяжки з рослинного матеріалу, піпетки, пробірки, спиртівка. 10% розчин їдконого натру, 1% розчин сульфату купруму, концентрована нітратна кислота, концентрований розчин аміаку, 5% розчин оцтовокислого свинцю, реактив Мілона, натрій гіпоброміду (0,2%), сечовини (40%), α -нафтолу спиртовий розчин, розчину сульфанілової кислоти (1%) в 5% розчині соляної кислоти, калій нітриту (0,5%), натрій карбонату (10%), концентрована сульфатна кислота, крижана оцтова кислота, яка містить невелику кількість гліоксилової кислоти.

Дослід 2.1. Біуретова реакція.

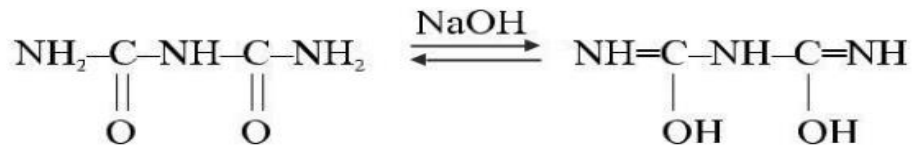
Дана реакція обумовлена наявністю пептидних зв'язків у молекулі білку, завдяки яким у лужному середовищі з солями купруму

утворюється кольорова комплексна сіль синьо-фіолетового або червоно-фіолетового забарвлення.

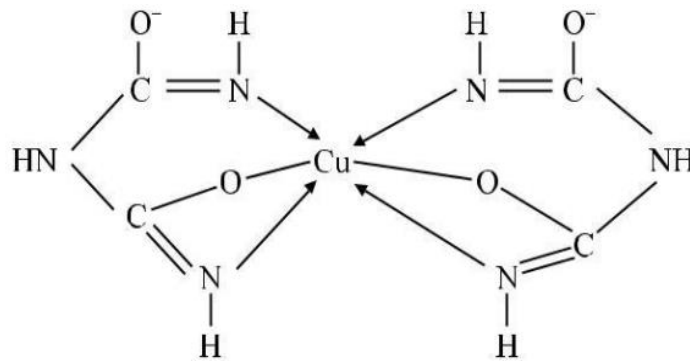
Вперше реакцію утворення комплексних сполук Купруму було проведено для біурету, звідси й назва реакції — біуретова. Біурет утворюється при нагріванні сухої сечовини:



В лужному середовищі біурет перетворюється на енольну форму:



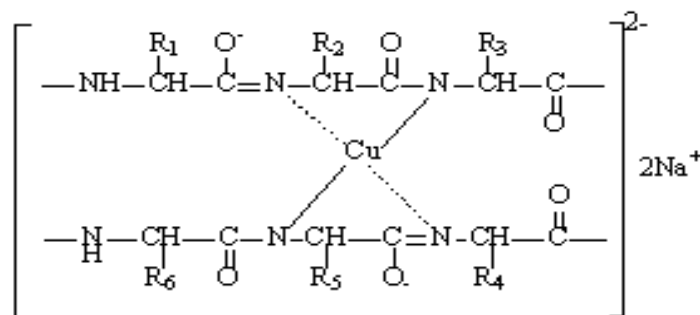
Дві молекули біурету взаємодіють із купрум гідроксидом з утворенням біуретового комплексу:



Порядок проведення дослідів

До 1 мл розчину білку додають 1 мл 10% розчину їдкого натру та 1-2 краплі 1% розчину сульфату купруму. Утворюється фіолетове забарвлення.

Не можна додавати надлишок купрум (II) сульфату, тому що синій осад купрум (II) гідроксиду маскує характерне фіолетове забарвлення біуретового комплексу білка).



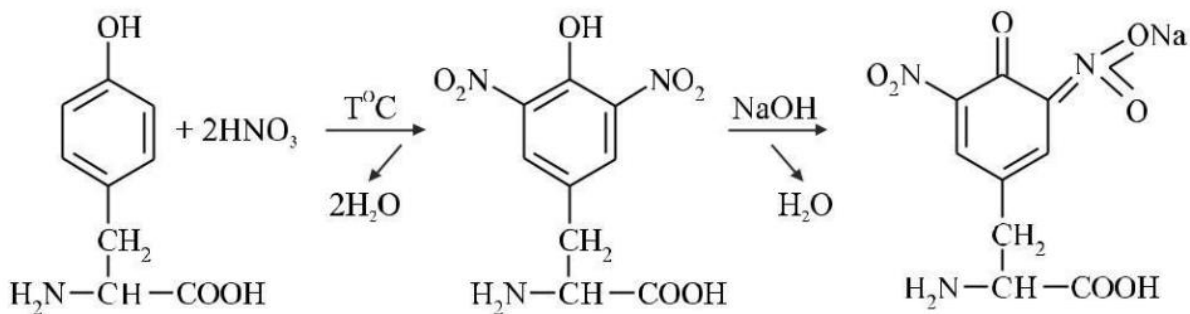
Дослід 2.2. Ксантопротеїнова реакція Мульдера.

Дана реакція базується на здатності ароматичних амінокислот (тирозину, триптофану, фенілаланіну) утворювати з концентрованою нітратною кислотою при нагріванні жовтозабарвлені нітросполуки.

Порядок проведення дослідів

До 1 мл розчину білку наливають під тягою 0,5 мл концентрованої нітратної кислоти. Випадає осад, який при нагріванні приймає жовте забарвлення. Після охолодження до пробірки додають 1 мл концентрованого розчину аміаку і жовте забарвлення переходить до помаранчевого внаслідок перетворення нітропохідних циклічних амінокислот до солей хіноїдної структури.

У лужному середовищі нітропохідні ароматичних амінокислот утворюють солі хіноїдної структури, забарвлені в помаранчевий колір. Після охолодження в перші дві пробірки додають 10-15 крапель 20% розчину лугу до появи помаранчевого забарвлення.

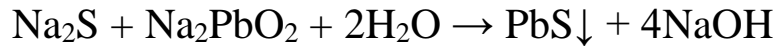
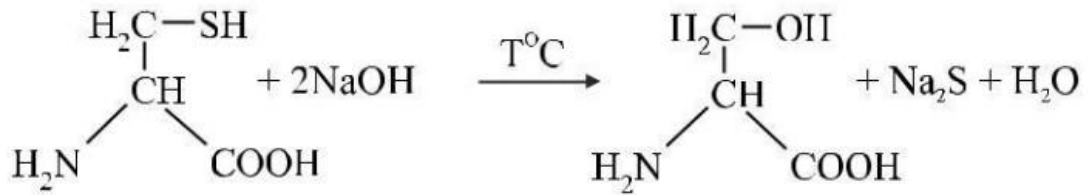


Дослід 2.3. Реакція на цистеїн (реакція Фоля).

Базується на утворенні сульфідів свинцю внаслідок взаємодії оцтовокислого свинцю з сірковмісними амінокислотами (цистеїн, цистин). Реакція Фоля дозволяє відкрити в білку або пептиді цистеїн, що містить слабкозв'язану сульфгідрильну групу. Метіонін хоч і є сульфурвмісною амінокислотою, але на відміну від цистеїну цієї реакції не дає, тому що Сульфур у ньому зв'язаний міцно.

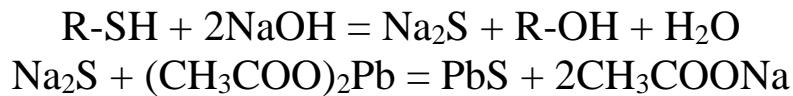
При кип'ятінні цистеїну в лужному середовищі Сульфур відщеплюється як сірководень, який у лужному середовищі легко утворює Натрій сульфід. Його утворення можна довести за допомогою йонів Плюмбуму, які з йонами Сульфуру утворюють нерозчинний плюмбум (II) сульфід чорного кольору. Для виявлення натрій сульфідів

можна використовувати плюмбум (II) ацетат, що взаємодіє з NaOH з утворенням натрій плюмбіту, який, реагуючи з натрій сульфідом, призводить до утворення пелюмбум (II) сульфїду.



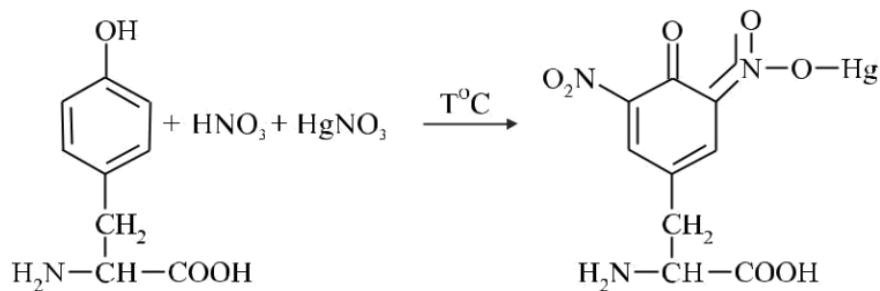
Порядок проведення дослїду.

До 1 мл розчину білку додають подвійний об'єм 10% розчину їдкого натру, перемішують, кип'ятять 2-3 хв., потїм додають 1-2 краплї 5% розчину оцтовокислого свинцю і продовжують нагрївання до випадїння чорного осаду PbS. Реакція вїдбувається за наступними рївняннями:



Дослїд 2.4. Реакція Мілона.

Обумовлена наявністю в молекулі білка аїноокислоти тирозину. При додаваннї реактиву Мілона білок випадє в осад, який при нагрїваннї набуває червоного кольору. Реакція доводить наявність у радикалі тирозину фенольного кїльця, здатного утворювати сїль меркурїї динїтротирозину.



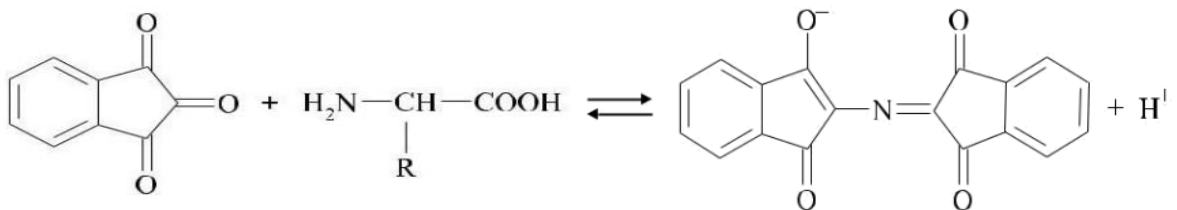
До розчину білку не слїд додавати надлишок реактиву Мілона, тому що він мїстить нїтратну кислоту, яка при взаємодїї з білком може дати жовте забарвлення, маскуючи реакцію Мілона.

Порядок проведення дослідів

До 1 мл розчину білку додають 1 мл реактиву Мілона. Утворюється білий осад, який при нагріванні приймає рожево-червоне забарвлення.

Дослід 2.5. Нінгідрінова реакція

Доводить присутність у білках ароматичних амінокислот: триптофану, фенілаланіну, тирозину. Реакція характерна для аміногруп в α -положенні та обумовлена наявністю α -амінокислот у молекулі білка. При нагріванні білка з водним розчином нінгідрину амінокислоти окислюються та розпадаються, утворюючи вуглекислий газ, амоніак та відповідний альдегід. Відновлений нінгідрин конденсується з амоніаком та окисленою молекулою нінгідрину, утворюючи сполуку фіолетово-синього кольору, яка тримала назву «синьо-фіолетовий комплекс Руемана».



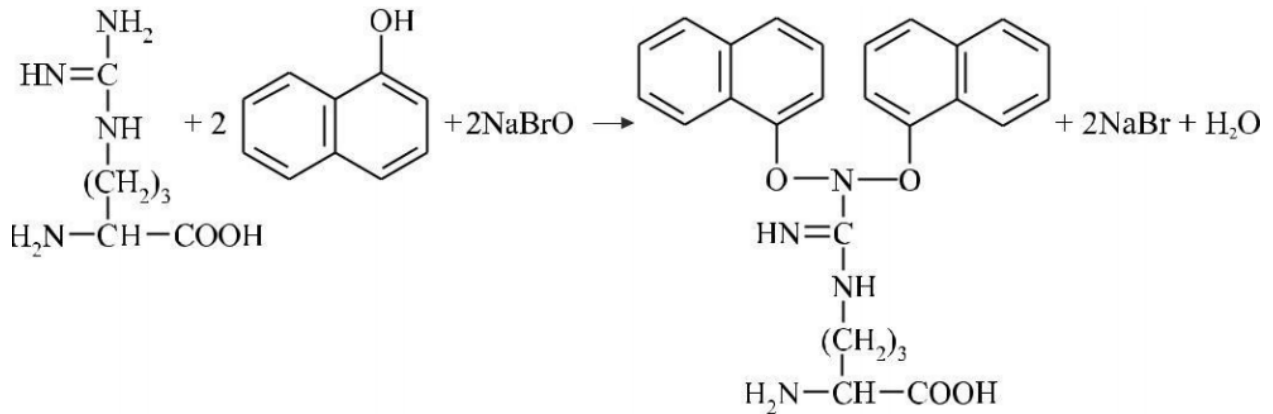
Порядок проведення дослідів

А. У пробірку вносять 1 мл 1% розчину гліцину або 3 мл 0,01% розчину проліну та додають 5 крапель 1% розчину нінгідрину в 95% розчині ацетону. Вміст пробірки ретельно перемішують і поміщають на 5 хвилин у термостат за температури 70°C.

Б. До 1 мл 1% розчину білку додають 5 крапель 0,5% водного розчину нінгідрину, перемішують і поміщають у термостат на 5 хвилин при температурі 70°C. У пробірці з'являється рожеве, червоне, а потім синьо-фіолетове забарвлення, з часом розчин синіє.

Дослід 2.6. Реакція Сакагучі

Реакція доводить наявність в молекулі білку амінокислоти аргініну. Якісною реакцією на аргінін є реакція Сакагучі. Аргінін, що має гуанідинове угруповання, у присутності α -нафтолу окислюється гіпобромідом у лужному середовищі з утворенням продукту конденсації рожево-червоного кольору.



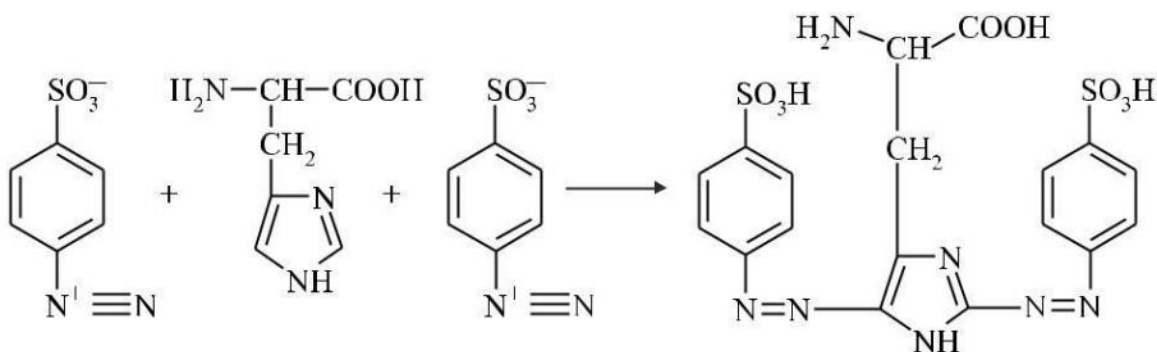
Порядок проведення дослідів

До 1 мл розчину білка отриманого з рослинного матеріалу додають 1 мл 10% розчину лугу, 3 краплі розчину α -нафтолу, ретельно перемішують і додають 3 краплі розчину натрій гіпоброміду, перемішують, потім швидко додають 1 мл 40% розчину сечовини.

Дослід 2.7. Реакція Паулі

Доводить наявність у білкових розчинах та гідролізатах амінокислоти гістидину та тирозину. При взаємодії кислого розчину сульфанілової кислоти з калій нітритом відбувається реакція діазотування та утворюється діазобензолсульфонова кислота.

За реакції діазобензолсульфонової кислоти з гістидином (або тирозином) утворюється комплексна сполука вишнево-червоного кольору.



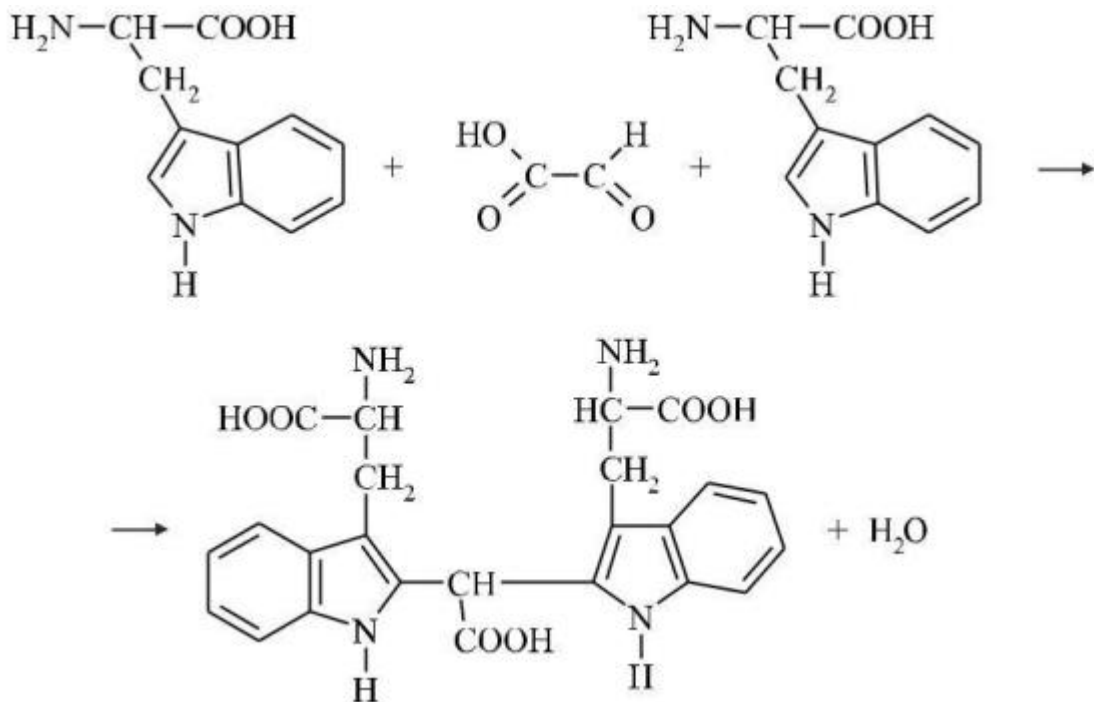
Порядок проведення дослідів

У 2 пробірки наливають по 1 мл 1% розчину сульфанілової кислоти в 5% розчині соляної кислоти і по 2 мл 0,5% розчину калій нітриту і сильно струшують пробірки. Потім швидко в першу пробірку наливають 2 мл 0,01% розчину гістидину, в другу – 2 мл 1% розчину

яєчного бїлку, пробїрки ретельно перемїшують і додають в обидвї пробїрки по 6 мл 10% розчину натрїй карбонату. Розвивається їнтенсивне вишнево-червоне забарвлення.

Дослїд 2.8. Реакцїя Адамкевича

Доводить наявнїсть в молекулі бїлку аїнокислоти триптофану. Триптофан у кислому середовищі вступає в реакцїю з глїоксисловою кислотою (альдеїдами), утворює забарвленї у червоно-фїолетовий колїр продукти конденсацїї.



Порядок проведення дослїду

До 1 мл 1% розчину яєчного бїлка додають 0,5 мл крижаної оцтової кислоти, яка мїстить невелику кїлькїсть глїоксислової кислоти. Отриману сумїш спочатку нагрївають, а потїм охолоджують і обережно по стїнцї по краплях, щоб рїдини не змїшувалися, додають 1 мл концентрованої сульфатної кислоти. Через 10 хвїлин на межї розподїлу двох шарїв спостерїгається утворення червоно-фїолетового кїльця.

Результати дослїду вносять в таблицю:

Таблиця - Якїсні реакцїї на бїлки та аїнокислоти

№ з/п	Назва реакцїї	Використанї реактиви	Ознака проходження реакцїї	Що доводить реакцїя

Завдання. Спостерігати явища, що відбуваються. Записати рівняння хімічних реакцій, заповнити таблицю, відзначивши «+», якщо реакція пройшла і «-», якщо реакція не пройшла. Замалювати кольоровими олівцями якісні реакції на білки. Зробити висновки.

РОБОТА № 3

Дослідження фізико-хімічних властивостей білків

Властивості білків насамперед залежить від амінокислотного складу, від взаємного розташування амінокислот, а також від структури білкової молекули, елементарного складу та багатьох інших факторів.

Проте, всі білки мають спільні загальні властивості. Так само як і амінокислоти, білки є амфотерними сполуками. Для них характерна ізоелектрична точка – величина рН, при якій білок як кислота і як основа має найменший ступінь дисоціації. При набуханні білки утворюють колоїдні розчини – драглі і гелі. Білки є дуже чутливими речовинами до дії фізичних, хімічних та біологічних факторів, вплив яких може призвести, наприклад, до денатурації білка. Денатурація білків – складне явище, в основі якого полягає зміна вторинної, третинної та четвертинної структури білкової молекули. Ця його властивість використовується для виявлення білку в досліджуваному матеріалі та виділення його в чистому вигляді. Методи осадження можна розділити на зворотні (висалювання нейтральними солями, дія спиртів) і незворотні, які призводять до руйнування нативної конформації білку, тобто денатурації.

Мета роботи: Поглибити теоретичні знання про фізико-хімічні властивості білків. Набути вміння виконувати експеримент по дослідженню властивостей простих білків..

Матеріали і обладнання: розчини білку (1%), нітратна кислота (10%), аргентум (I) нітрат (1%), натрій гідроксид (10%), купрум (II) сульфат (1%), насичений розчин амоній сульфату, кристалічний амоній сульфат, оцтова кислота (1% та 10%), насичений розчин натрій хлориду, дистильована вода, целофановий мішечок, діалізатор, лійка, фільтрувальний папір, пальник, пробірки, штатив для пробірок.

Дослід 3.1. Діаліз сольового розчину білка

Метод діалізу заснований на здатності низькомолекулярних речовин дифузно проникати через напівпроникні мембрани, а макромолекул – не проникати. Білки – високомолекулярні колоїдні речовини, тому не дифундують через напівпроникні мембрани (наприклад, колодієву або целофанову плівки). Ця властивість білків полягає в основі їх очищення від низькомолекулярних домішок.

Порядок виконання дослідів

Целофановий мішечок наповнюють на одну третину об'єму 1% розчином досліджуваного білка. Мішечок поміщають у діалізатор, заповнений дистильованою водою, затискуючи біля верхнього краю двома скляними паличками, які скріплені гумовими кільцями. Через 48 годин з діалізатом (зовнішня рідина) і дистильованою водою, що використовується для діалізу, проводять реакцію на виявлення хлоридів. Готують дві пробірки, в одну з них наливають 1 мл діалізату, в іншу – 1 мл дистильованої води, потім по 1 краплі 10% розчину нітратної кислоти і 1% розчину аргентум (I) нітрату. У пробірці, що містить діалізат, випадає білий осад, а у пробірці з дистильованою водою осаду немає. Роблять висновок про те, що при діалізі сольового розчину білка хлориди проникли у діалізат через напівпроникну мембрану.

Для перевірки вмісту білка в одну пробірку наливають 3 мл діалізату, в іншу – 3 мл рідини, яку діалізують, потім в обидві пробірки додають по 1 мл 10% розчину натрій гідроксиду і по 1–2 краплі 1% розчину купрум (II) сульфату (проводять біуретову реакцію). За зміною забарвлення в пробірці з рідиною, що діалізується, роблять висновок про те, що білок не проникає через напівпроникну мембрану.

Дослід 3.2. Розподіл альбумінів та глобулінів яєчного білку методом висолювання

Висолування – оборотна реакція осадження білків із розчинів з за допомогою великих концентрацій нейтральних солей (NaCl , Na_2SO_4 , MgSO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ та ін.). При висолуванні відбувається дегідратація макромолекул білка та усунення заряду. На процес висолування впливає ряд факторів, таких як гідрофільність білка, відносна молекулярна маса, заряд. Внаслідок цього для висолування різних білків потрібна різна концентрація одних і тих же солей.

Глобуліни осаджуються в напівнасиченому розчині амоній сульфату, а альбуміни – у насиченому розчині амоній сульфату.

Порядок виконання досліду

До 1–2 мл яєчного білку доливають рівний об'єм насиченого розчину амоній сульфату та перемішують. Утворюється напівнасичений розчин амоній сульфату, у якому випадає осад глобуліну. Через 5 хвилин осад відфільтровують. У фільтраті залишається інший білок – яєчний альбумін. Для висолювання альбуміну до фільтрату додають кристалічний амоній сульфат до повного насичення, тобто поки нова порція солі залишається нерозчинною. Осад альбуміну, що випав, відфільтровують.

Дослід 3.3. Осадження білків при нагріванні

Випадання білків в осад при нагріванні притаманно майже всім білкам (виняток становить желатин). Особливо легко і повніше відбувається осадження білку в слабко-кислому середовищі, поблизу ІЕТ. В нейтральному та сильно-кислому середовищі осадження білків йде значно гірше, а в лужному середовищі зовсім не спостерігається. Теплова денатурація на початковій стадії призводить до змін конформації, які можуть бути оборотними. На наступній стадії неконтрольована агрегація призводить до утворення неупорядкованого клубка.

Порядок виконання досліду

У п'ять пронумерованих пробірок наливають по 2 мл 1% розчину яєчного білка. Першу пробірку нагрівають до кипіння. Спостерігають утворення осаду.

У другу пробірку додають 0,1 мл 1% розчину оцтової кислоти і нагрівають до кипіння. Випадають пластівці осаду. Осадження йде повніше і швидше, ніж у першому випадку, внаслідок того, що частинки білку втрачають заряд, тому що рН розчину наближається до ізоелектричного стану.

У третю пробірку додають 0,5 мл 10% розчину оцтової кислоти і нагрівають до кипіння. Осад не утворюється навіть при кип'ятінні, тому що молекули білка набувають позитивного заряду, що підвищує їх стійкість.

У четверту пробірку додають 0,5 мл 10% розчину оцтової кислоти. 0,5 мл насиченого розчину натрій хлориду та нагрівають.

Спостерігають появу осаду. Його утворення зумовлено тим, що білок при взаємодії з йонами натрію хлориду втрачає свій заряд.

У п'яту пробірку додають 0,5 мл 10% розчину натрій гідроксиду. При кип'ятінні осад не утворюється, тому що в лужному середовищі збільшується негативний заряд білку.

Завдання: описати роботу й сформулювати висновки про фізико-хімічні властивості білків.

РОБОТА № 4

Колориметричний метод визначення вмісту легкокорозчинного білку (за Лоурі)

Метод заснований на реакції *реагенту Фоліну* з пептидними зв'язками, що дає синє забарвлення у лужному середовищі. Його застосовують для визначення білку в розчинах з концентрацією від 10 до 100 мкг / мл.

Мета роботи: визначення вмісту легкокорозчинного білку у різноманітних рослинних об'єктах.

Матеріали і обладнання: рослинний матеріал; пісок, порцелянова ступка, конічні колби, водяна лазня, термометр, пробірки, ФЕК. Реактиви: 2% розчин Na_2CO_3 у 0,1 н NaOH ; 0,5% розчин ного $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ у 1% розчині двозаміщеного виннокислового натрію чи калію (сегнетова сіль); Робочий розчин: готують, змішуючи 1-й і 2-й розчин (у співвідношенні 50:1) - реактив придатний до використання протягом одного дня; Реактив Фоліну (1 н розчин перед використанням розводять у 6 разів); Трис-солянокислий буфер рН 8; 10 % розчин ТХО (трихлороцтової кислоти); 1 н розчин NaOH .

Порядок виконання роботи

Приготування білкового екстракту

Наважку 0,2 г сухого чи 1-2 г сирого рослинного матеріалу ретельно розтирають у порцеляновій ступці з 5 мл трис-НСІ буферу рН 8 до однорідної маси. Двічі промивають ступку буфером, переносять її вміст у центрифужну пробірку (загальний об'єм екстракту 10 мл) і центрифугують протягом 5 хв. зі швидкістю 3000 об./хв. Надосадова рідина - білковий екстракт, у якій визначають вміст білку.

Очищення білку.

Перед визначенням білку проводять його часткове очищення. Для цього до 1 мл екстракту додають 2 мл охолодженої 10 % ТХО. Вміст пробірки перемішують і залишають на льоду протягом 10 хвилин. Далі проби центрифугують 5 хвилин при 1500 об/хв. Надосадову рідину зливають, тонкою смужкою фільтрувального паперу забирають надлишки рідини, осад розчиняють у 5 мл 1н розчину NaOH.

Проведення кольорової реакції

Потім у суху пробірку відбирають 0,1 мл дослідного розчину, додають 0,9 мл води і 1мл робочого розчину. Залишають суміш на 10 хвилин при кімнатній температурі. Після цього додають 3 мл реактиву Фоліна (розведеного в 6 разів) і поміщають пробірки на водяну лазню при 50 °С на 10 хвилин. Потім проби охолоджують до кімнатної температури і колориметрують на ФЕКу за червоного світлофільтра проти контрольного розчину. У якості контролю використовують суміш, де замість розчину білка доливають 1 мл 0,1 н розчину NaOH. Концентрацію білку у розчині, взятому для аналізу, знаходять за калібрувальним графіком (див. додатки). Вміст білку (А,%) у аналізованому матеріалі розраховують за формулою:

$$A = \frac{C \cdot V \cdot k}{V_1 \cdot m} \cdot 100\%$$

Де, C - концентрація білка в дослідному розчині за калібрувальним графіком, мг/мл;

V - загальний об'єм витяжки, мл;

V_1 - об'єм витяжки, взятий для аналізу, мл;

m - наважка рослинного матеріалу, мг;

k - коефіцієнт розведення.

Результати заносять у таблицю:

Об'єкт	Наважка, мг	О - оптична густина розчину	С- концентрація, мг/мл	А - вміст легкорозчинного білка, %
1.				
2.				
3.				
4.				

Завдання. Записати хід проведення аналізу, заповнити таблицю, розрахувати вміст легкорозчинного білку в дослідних рослинних зразках та зробити висновки.

РОБОТА № 5

Фотометричний метод визначення вмісту амінного азоту

Метод використовують для визначення суми вільних амінокислот. Він базується на переведенні амінокислот у розчинні мідні солі та наступному визначенні міді. Вміст міді визначають за вмістом купруму ферроціаніду - $\text{CuFe}(\text{CN})_6$, який дає рожеве забарвлення за малих концентрацій. Метод дозволяє визначити 0.1 мкг амінного азоту в 1 мл розчину.

Мета роботи: визначити вміст суми вільних амінокислот у різних рослинних об'єктах.

Матеріали і обладнання: пісок, порцелянова ступка, конічні колби, іпейкер, пробірки, ФЕК; універсальний індикатор. Рослинний матеріал (вегетативні та генеративні органи). 0,16 М розчин Na_3PO_4 ; Боратний буфер рН 8,9; CuCl_2 ; Суспензія $\text{Cu}_3(\text{PO}_4)_2$ - перед використанням змішують розчини 1, 2,3 у співвідношенні 1:2 :2; Ферроціанідний реактив (готують перед використанням) - змішують у рівних об'ємах 1% розчин NH_4NO_3 і 1% розчин $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ - жовта кров'яна сіль; 10% розчин HCl ; 2% розчин сегнетової солі $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6$.

Порядок виконання роботи

Приготування екстракту амінокислот

Реактиви: 1) 5 % ZnSO_4 ;

2) 5 % NaOH .

Беруть наважку 0,2 г сухої чи 1-2 г сирової рослинної маси, розтирають у порцеляновій ступці з 5-10 мл води і поміщають у колбу на 25 мл. Доливають 10 мл води і нагрівають на водяній лазні при 45-50°C протягом 30 хв., 2-3 рази перемішуючи вміст колби. В екстракті осаджують білки, додаючи 2 мл 5% розчину ZnSO_4 , а потім доливають 0,5 мл 5% розчину NaOH і доводять рН до нейтрального значення (за допомогою універсального індикатора). Вміст колби доводять водою до риски 25 мл, перемішують та фільтрують. У фільтраті визначають вміст вільних амінокислот.

Хід аналізу

У конічну колбу наливають 5 мл дослідного розчину (фільтрату) і 5 мл суспензії $\text{Cu}_3(\text{PO}_4)_2$ та збовтують на шейкері протягом 10 хвилин. Одночасно ставлять контрольну пробу, доливаючи замість дослідного розчину 5 мл води. Вміст колб фільтрують і відбирають 5 мл фільтрату в мірну пробірку на 10 мл. Потім у пробірку додають 0,1 мл 10% HCl ,

1мл ферроціанідного реактиву і 1 мл 2% розчину сегнетової солі, доводять водою до риски, перемішують і колориметрують на ФЕКу із зеленим світлофільтром проти контрольного розчину, в якому замість екстракту амінокислот беруть 5 мл води. Концентрацію амінного азоту в дослідному розчині визначають за калібрувальним графіком. Вміст вільних амінокислот (А, %) розраховують за формулою:

$$A = \frac{C \cdot V}{V_1 \cdot m} \cdot 100\%$$

де, C - концентрація амінного азоту в дослідному розчині за калібрувальним графіком, мг/мл;

V - загальний об'єм витяжки, мл;

V_1 - об'єм витяжки, взятий для аналізу, мл;

m - наважка рослинного матеріалу, мг.

Результати заносять у таблицю:

Об'єкт	Наважка, мг	О - оптична густина розчину	с- концентрація, мг/мл	А - вміст вільних амінокислот %
1.				
2.				
3.				

Контрольні запитання до теми «Амінокислоти. Білки»

1. Поясніть, чому білки – матеріальні субстрати життя.
2. Перелічте функції білків в організмі, наведіть приклади.
3. Що є мономером білкової молекули? Охарактеризуйте амінокислоти як амфоліти.
4. Поясніть кислотно-основні властивості амінокислот,
5. Дайте визначення ізоелектричній точці.
6. Обґрунтуйте принципи та критерії класифікації амінокислот.
7. Як впливає рН середовища на йонізацію амінокислот?
8. Охарактеризуйте фізико-хімічні властивості білків.
9. Поясніть розчинність білків. Які фактори впливають на стійкість білка у розчині?

10. Опишіть сучасні методи виділення білків.
11. Які види зв'язків у білковій молекулі?
12. За якими критеріями класифікують білки?
13. Наведіть приклади білків рослинного походження. Поясніть їх значення у живому організмі.
14. Охарактеризуйте процес набухання білків і їх розчинність.
15. Наведіть класифікації білків за хімічним складом, формою білкових молекул, фізико-хімічними і біологічними властивостями.
16. Які особливості будови простих і складних білків?
17. На основі яких критеріїв виділяють окремі групи складних білків?
18. Які кольорові реакції на білки та амінокислоти Ви знаєте?
19. Поясніть реакції осадження білків. Які фактори впливають на стабілізацію білків в розчинах.
20. Дайте визначення поняттю денатурації та ренатурації білків. Які чинники їх викликають?
21. Як відбувається ферментативний і кислотний гідроліз білків?
22. Які методи кількісного визначення білків Вам відомі?
23. Чим відрізняються висолювання та засолювання?
24. Поясніть, що таке реакція Майяра.
25. Як білки впливають на якість пшеничного борошна?
26. Як визначають вміст сирого протеїну у зернових культурах?
27. Опишіть, як відбувається біуретова реакція.
28. Що характеризує і як проходить ксантопротеїнова реакція?
29. За дії яких речовин відбувається осадження білків і яким воно буває?
30. Як використовують осадження білків при визначенні сили борошна?

Тестові завдання до теми «Амінокислоти. Білки»

- Що являють собою білки:
 - Органічні високомолекулярні сполуки, які побудовані із залишків карбонових кислот;
 - Органічні високомолекулярні сполуки, які побудовані із залишків амінокислот;
 - Органічні високомолекулярні сполуки, які побудовані із залишків оксикислот;
 - Органічні високомолекулярні сполуки, які побудовані із залишків кетокислот.
- Похідними якого класу сполук є амінокислоти:
 - Карбонових кислот;
 - Амінів;
 - Вуглеводів;
 - Спиртів.
- До складу якої амінокислоти входить гідроксильна група:
 - Аланіну;
 - Цистеїну;
 - Лізину;
 - Серину.
- Яка амінокислота має дисульфідний зв'язок:
 - Аланін;
 - Серин;
 - Цистин;
 - Цистеїн.
- Які амінокислоти мають дві карбоксильні групи:
 - Лізин, аланін;
 - Ізолейцин, валін;
 - Аспарагінова кислота, глутамінова кислота;
 - Фенілаланін, цистин.
- Які амінокислоти мають дві аміногрупи:
 - Лізин, аргінін;
 - Лейцин, тирозин;
 - Гістидин, валін;
 - Триптофан, гліцин.
- Вкажіть за допомогою якого хімічного зв'язку сполучаються амінокислоти, при утворенні первинної структури білка:
 - Водневого;
 - Йонного;
 - Пептидного;
 - Дисульфідного.
- За участю яких функціональних груп амінокислот утворюється пептидний зв'язок:
 - Груп $-\text{COOH}$ і $-\text{OH}$;
 - Груп $-\text{OH}$ і $-\text{NH}_2$;
 - Груп $-\text{SH}$ і $-\text{COOH}$;
 - Груп $-\text{COOH}$ і $-\text{NH}_2$.

9. Вкажіть на властивості, характерні для білків:
- А. Висока молекулярна маса, термолабільність;
 - Б. Здатність розчинятися в органічних розчинниках, термостабільність;
 - В. Низька молекулярна маса, погано розчиняються у воді;
 - Г. Проходять через напівпроникні мембрани, не осаджуються солями важких металів.
10. Від чого залежить ступінь йонізації функціональних груп білкової молекули:
- А. Від кількості функціональних груп;
 - Б. Від значення рН середовища;
 - В. Від наявності карбоксильних груп;
 - Г. Від наявності аміногруп.
11. Ізоелектрична точка білків – це значення рН, при якому:
- А. Молекула білка набуває позитивного заряду;
 - Б. Білок є електронейтральним;
 - В. Молекула білка набуває негативного заряду;
 - Г. Розчинність білка найбільша.
12. Висолювання – це зворотне осадження білків з розчину під дією:
- А. Солей важких металів;
 - Б. Концентрованих мінеральних кислот;
 - В. Насичених та напівнасичених розчинів солей лужних і лужноземельних металів;
 - Г. Органічних кислот.
13. Засолювання білків це:
- А. Осадження під дією солей;
 - Б. Зниження розчинності під дією високих концентрацій солей важких металів;
 - В. Підвищення розчинності під дією низьких концентрацій нейтральних солей;
 - Г. Осадження під дією органічних кислот.
14. Вкажіть назву процесу, який зумовлює зміну структури та втрату властивостей білкової молекули:
- А. Конденсація; Б. Ренатурація;

В. Денатурація; Г. Седиментація.

15. Що таке прості білки?

- А. Білки, які побудовані із залишків амінокислот і вуглеводів;
- Б. Білки, які побудовані лише із залишків амінокислот;
- В. Білки, які побудовані із залишків амінокислот і фосфорної кислоти;
- Г. Білки, що містять у своєму складі йони металів.

16. Що таке складні білки?

- А. Білки, які побудовані із простого білка і небілкової частини (простетичної групи): вуглеводів, ліпідів, нуклеїнових кислот, йонів металів та ін.;
- Б. Білки, що побудовані з простого білка і окремих спиртів;
- В. Білки, що побудовані з простого білка і дикарбонових кислот;
- Г. Білки, що побудовані з простого білка і діамінів.

17. Класифікація простих білків базується на:

- А. Компонентному складі;
- Б. Особливостях структури;
- В. Функціях і властивостях;
- Г. Амінокислотному складі.

18. Глютеліни – це:

- А. Рослинні білки;
- Б. Рослинні і тваринні білки;
- В. Тваринні білки;
- Г. Білки цитоплазми.

19. Гістони входять до складу:

- А. Мембран;
- Б. Мітохондрій;
- В. Цитоплазми;
- Г. Ядерної ДНК.

20. Альбуміни і глобуліни відрізняються:

- А. Будовою;
- Б. Властивостями;
- В. Властивостями і функціями;
- Г. Структурою.

21. Протаміни містять високий вміст:

- А. Моноаміномонокарбонових кислот;
- Б. Цистеїну;
- В. Гліцину;
- Г. Аргініну і лізину.

22. Протаміни не містять в своєму складі:

- А. Метіоніну;
- Б. Цистеїну;
- В. Тирозину;
- Г. Лізину.

23. Протеїноїди містять значну кількість:
А. Серину; Б. Гліцину; В. Тирозину; Г. Цистеїну.
24. Глікопротеїни складаються з білка та:
А. Церебросидів; Б. Вуглеводних компонентів;
В. Неорганічного фосфору; Г. Нуклеотидів.
25. Які прості білки входять до складу нуклеопротеїдів:
А. Альбуміни, глобуліни; Б. Фібриноген, колаген;
В. Протаміни, пістони; Г. Проламіни, глютеліни.
26. У фосфопротеїнах залишки фосфату приєднуються до радикалів:
А. Цистеїну; Б. Аргініну; В. Серину; Г. Серину і треоніну.

ТЕМА ВУГЛЕВОДИ



РОБОТА № 1

Виділення вуглеводів з рослинних тканин

Вуглеводи належать до органічних сполук, яких найбільше накопичено в біосфері земної кулі. Усі три основні типи вуглеводів моно- оліго- і полісахариди мають важливе біологічне значення і знаходять широке застосування в різних галузях народного господарства, зокрема, в сільському господарстві. Наприклад, фосфорні ефіри глюкози і фруктози - глюкозо-6-фосфат, фруктозо-1,6-дифосфат і фруктоза-6-фосфат відіграють важливу роль у перетворенні крохмалю і глікогену, а також у процесах дихання і спиртового бродіння. При розвитку деяких плісневих грибів на розчинах глюкози утворюється велика кількість D-глюконової кислоти.

В овочах, ягодах і плодах міститься мало крохмалю, але багато глюкози, фруктози, сахарози, які визначають їх якість. Важливо зберегти ці розчинні цукри у плодах при їх тривалому зберіганні.

Надзвичайно широко розповсюджений у природі такий дисахарид як сахароза - вуглевод, що зустрічається тільки в рослинному організмі й має дуже важливе значення в обміні речовин у рослин. Встановлено, що сахароза - це найлегше засвоюваний цукор.

Рослини синтезують щорічно гігантську кількість полісахаридів крохмалю і целюлози (10^{12} кг). Крохмаль є важливою харчовою

речовиною і широко застосовується в техніці та інших галузях народного господарства. Тому необхідний облік його кількості в рослинах, що проводиться шляхом агрохімічного аналізу. Крохмаль - найдешевший з вуглеводів, головна харчова речовина, яка споживається людиною у вигляді хліба, макаронів, круп, кондитерських виробів, картоплі та інших продуктів. Калорійність крохмалю досить висока: теплота згорання 1 г крохмалю - 4183 калорії.

Сільськогосподарські культури вирощуються для отримання продукції з певним умістом білків, цукрів, клітковини, вітамінів й інших речовин. Наприклад, великий зміст клітковини в сіні погіршує його кормові якості. Такі культури, як бавовник, коноплі вирощуються заради одержання волокна, але переважно складаються з клітковини. Якість цукрового буряка оцінюється за вмістом сахарози. Значення вуглеводів для рослинних і тваринних організмів виключно велике. Вуглеводи складають до 85-90% речовин, які входять у рослинний організм. Вуглеводи є основним поживним і головним опорним матеріалом для рослинних клітин і тканин.

Пектинові речовини грають важливу роль при обробці рослинних волокон, наприклад, льону. Процес вимочування льону ґрунтується на тому, що під дією особливих мікроорганізмів, які виділяють ферменти, що гідролізують пектинові речовини, відбувається мацерація стебел льону і відокремлення волокон одне від одного.

Високомолекулярним полісахаридом є агар-агар, який міститься у деяких морських водоростях. У холодній воді агар-агар не розчинний, але розчиняється при нагріванні. Його водні розчини при охолодженні застигають у вигляді холоцю. Агар-агар використовують у бактеріології для виготовлення твердих живильних середовищ, у кондитерській промисловості.

Сахара виділяють із запасуючих органів рослин (коренеплодів, насіння, бульб), оскільки саме там міститься найбільша їх кількість.

Мета роботи: засвоїти методи екстракції різних класів вуглеводів з рослинних об'єктів.

Матеріали й устаткування: коренеплоди моркви, цукрового буряка; терки металеві; колби на 100 мл; стакани; фільтрувальний папір; тканина, марля; водяна лазня.

Порядок виконання роботи.

Екстракція глюкози

Для отримання моносахариду глюкози можна використовувати коренеплід моркви. Обчищений і вимитий коренеплід моркви натирають на терці, беруть від 5 до 10 г мезги, поміщують в колбу, заливають 10-15 мл води, кип'ятять і фільтрують. З фільтратом проводять якісні реакції на сахари.

Екстракція сахарози

Для отримання дісахариду сахарози можна використовувати коренеплід цукрового буряка, звідки її і одержують технічно. Очищений і вимитий коренеплід цукрового буряка натирають на терці, беруть 20 г мезги, поміщують в колбу, заливають 50 мл води, ретельно перемішують і через 20 хвилин фільтрують. З фільтратом проводять якісні реакції на сахари.

Екстракція мальтози

Для отримання дісахариду мальтози використовують солод: беруть 20 г солоду, поміщають в колбу, заливають 50 мл води, підігрітої до 30⁰С, і фільтрують. З фільтратом проводять якісні реакції на сахари.

Отримання розчину крохмалю

Беруть 50 мл води, нагрітої до кипіння, і додають 1 г крохмалю, заздалегідь розчиненого в 10 мл холодної води. При додаванні крохмалю до киплячої води слідує киплячу рідину весь час розмішувати скляною паличкою. Після додавання крохмалю рідину кип'ятять до тих пір, поки вона не стане більш менш прозорою. З отриманим розчином проводять якісні реакції на сахари.

Завдання. Записати методику отримання розчинів рослинних моно-, ди- та полісахаридів та зробити висновки.

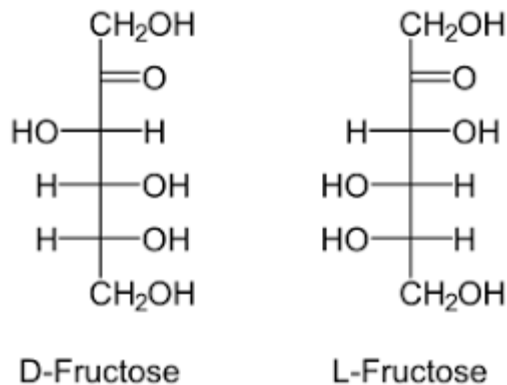
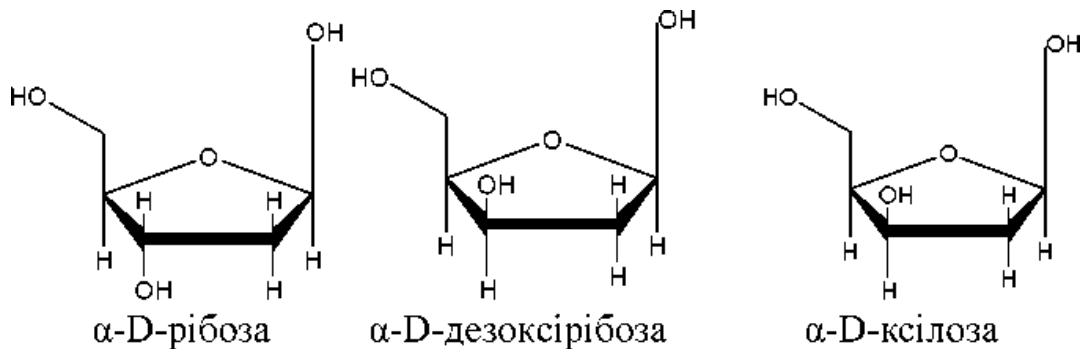
РОБОТА № 2

Якісне визначення вуглеводів в рослинних тканинах

За розмірами і властивостями молекул вуглеводи розділяють на прості (*моносахариди*) і складні (*полісахариди*).



Моносахариди містять 2-7 атомів вуглецю, сполучених в нерозгалужений ланцюг; є безбарвними кристалічними речовинами, розчинними у воді, солодкі, оптично активні. Найважливішими з них є сполуки з 5 атомами вуглецю - пентози: рибоза і дезоксирибоза, що входять до складу нуклеїнових кислот і ксілоза, що міститься в деревині, соломі і т.п.. та з 6 атомами вуглецю – глюкоза і фруктоза, що містяться у клітинному соці.



Мета роботи: провести якісні реакції на різні класи вуглеводів з рослинних об'єктів.

Матеріали й устаткування: розчини вуглеводів з рослинної сировини, крохмаль, розчин йоду на йодиді калію, фелінгова рідина, амоніачний розчин аргентум оксиду, 10% розчин хлориду натрію, 1% розчин купрум (II) сульфату, розчин натрій гідроксиду (10%), сульфатна та хлоридна кислоти, пробірки, терка, фарфорова ступка, лійки, спиртівка, сірники, фільтрувальний папір, ножиці, мірні піпетки, марля, піпетки, звичайні, водяна баня, шпателя.

Порядок виконання роботи.

Дослід 1

Реакція срібного дзеркала.

Реакція проводиться для виявлення наявності альдегідної групи у глюкозі. Глюкоза відновлює амоніачний розчин аргентум гідроксиду, утворений при взаємодії аргентум нітрату з натрій гідроксидом і водяним розчином амоніаку до металевого срібла.

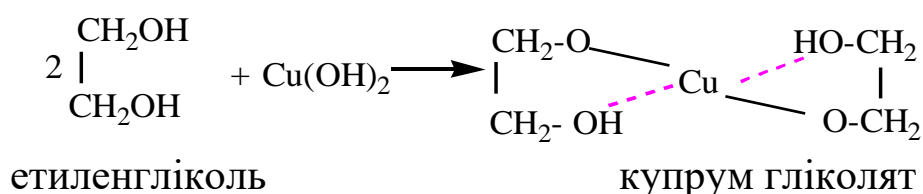
Хід роботи:

1. В пробірку вносять 1-2 мл розчину глюкози.
2. Додають 4 краплі амоніачного розчину аргентум оксиду.
3. Нагрівають на водяній бані (60-70°C) 15 хв. На стінці утворюється наліт срібла.

Дослід 2

Реакція з купрум (II) гідроксидом $\text{Cu}(\text{OH})_2$ (Проба Троммера)

Використовується для виявлення наявності декількох гідроксильних груп у вуглеводах. У вуглеводів як і у двох-, трьох- та багатоатомних спиртів, з гідроксидами деяких важких металів, наприклад з $\text{Cu}(\text{OH})_2$, гліколі утворюють комплексні гліколяти. При цьому не розчинний у воді $\text{Cu}(\text{OH})_2$ в гліколі легко розчиняється, утворюється яскраво-синій прозорий розчин :



Хід роботи:

1. У 3 пробірки наливають по 10 крапель 10 % розчину NaOH і додають по 10 крапель 5% розчину CuSO₄. Спостерігається утворення осаду купрум (II) гідроксиду (Cu(OH)₂) із слабо-синім забарвленням.
2. В 1 пробірку додати 3 краплі 1% розчину глюкози.
3. В 2 – 1% р-ну сахарози.
4. В 3 – свіжоприготований розчин яблучного соку.
5. Вміст всіх пробірок струсити. Спостерігають розчинення осаду купрум гідроксиду і утворення розчинів синього кольору. Розчинення осаду відбувається за рахунок взаємодії Cu(OH)₂ з гідроксильними групами вуглеводів з утворенням розчинних комплексних сполук. Розчини залишають для наступного дослідження.
6. Розчини залишають для наступного дослідження.

Дослід 3**Вивчення відновлюючої здатності вуглеводів**

Всі вуглеводи, що мають вільну карбонільну групу (з вільним глікозидним гідроксилом), дають ряд характерних реакцій, заснованих на окисненні цієї групи і відновленні деяких слабких окисників: оксидів купруму, аргентуму та ін. Олігосахариди, що дають такі реакції, носять назву відновлюючих, в протилежність невідновлюючим олігосахаридам, що не містять вільної карбонільної групи. Із збільшенням молекулярної маси відновлююча здатність спадає (полісахариди її практично не виявляють). Реакції окиснення сахаридів легко відбуваються в лужному середовищі і важче в нейтральному і особливо в кислому середовищі.

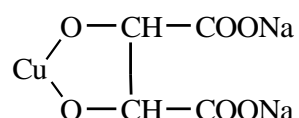
Хід роботи:

1. З пронумерованих пробірки (отримані в досліді 2) з розчинами комплексних сполук купруму з вуглеводами, перемішати і нагрівати обережно до кипіння.
2. У тих пробірках, де знаходяться відновлюючі вуглеводи, утворюється спочатку жовтий осад, гідроксиду (CuOH), який при подальшому нагріванні переходить в червоний осад купрум (I) оксиду (Cu₂O).

Дослід 4

Реакція на редуруючі вуглеводи (Реакція Фелінга).

Під час нагрівання досліджуваного вуглеводу з реактивом Фелінга при наявності відновлюючих вуглеводів утворюється червоно-бурий осад. Реактив Фелінга - це суміш купрум сульфату і лужного розчину сегнетової солі:



Реакція зумовлена окисненням вуглеводу (наприклад, глюкози) і відновленням купрум (II) гідроксиду у купрум (I) гідроксид, який розкладається на воду і купрум (I) оксид червоно-бурого кольору:

Сегнетова сіль зв'язує надлишок купрум (II) гідроксиду. Сахароза, на відміну від глюкози, фруктози, лактози, мальтози та інших відновлюючих вуглеводів, дає негативну реакцію, бо дві монози, які входять до її складу, сполучені за рахунок своїх глікозидних гідроксилів. Позитивну реакцію дають тільки ті вуглеводи, які мають альдегідну групу або вільний глікозидний гідроксил.

Хід роботи:

У три пробірки наливають по 1-2 мл розчину глюкози, сахарози та свіжоприготованого яблучного соку.

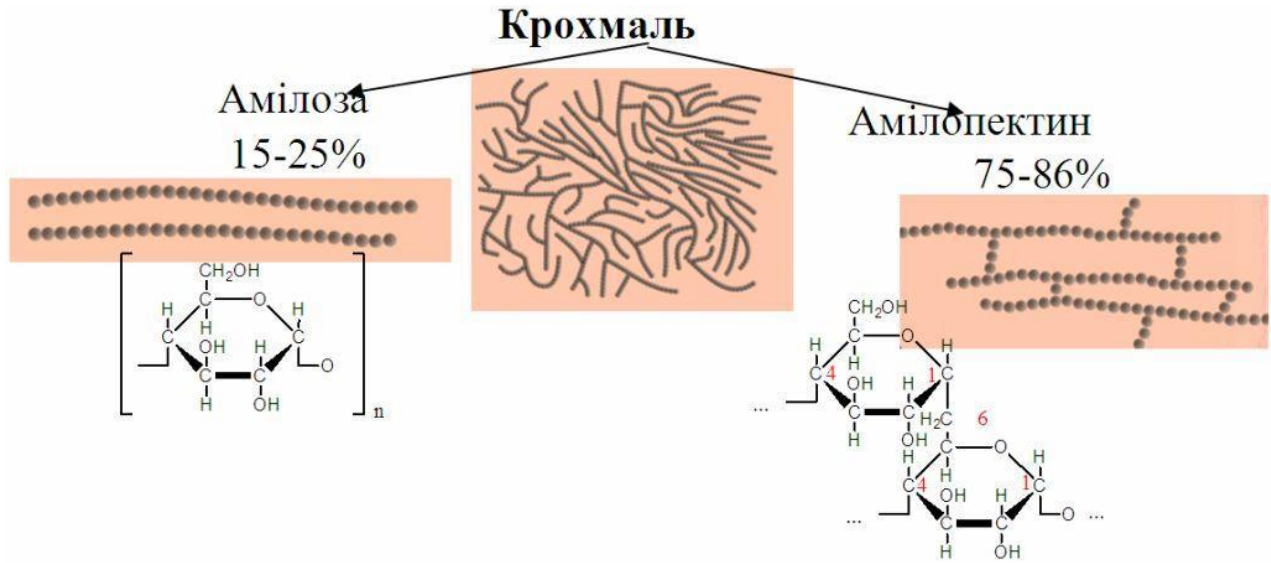
1. До розчину глюкози у пробірці №1 додають рівний об'єм реактиву Фелінга (складається з розчинів CuSO_4 , NaOH і сегнетової солі).
2. До розчину сахарози у пробірці №2 додають рівний об'єм реактиву Фелінга.
3. До розчину свіжоприготованого яблучного соку у пробірці №3 додають рівний об'єм реактиву Фелінга.
4. Суміш нагрівають до кипіння. (У відновлюючих вуглеводів утворюється червоний осад купрум (I) оксиду).

Дослід 5

Якісна реакція на крохмаль.

Найбільш специфічна реакція на крохмаль – поява синього забарвлення з йодом, що обумовлене амілозою. Забарвлення зникає

при нагріванні і відновлюється при охолодженні крохмального клейстеру.



Хід роботи:

1. До 1-2 мл розчину крохмального клейстеру додають 1-2 краплі реактиву Люголя (розчин йоду з йодистим калієм) – з'являється синє забарвлення.
2. Розчин охолоджують – синє забарвлення зникає.

Результати дослідів заносять у таблицю такої форми:

№ п/п	Назва реакції	Використані реактиви	Ознака проходження реакції	Що доказує реакція

Завдання. Спостерігати проходження кольорових реакцій на моно-, ди- та полісахариди, результати занести до таблиці та зробити необхідні висновки.

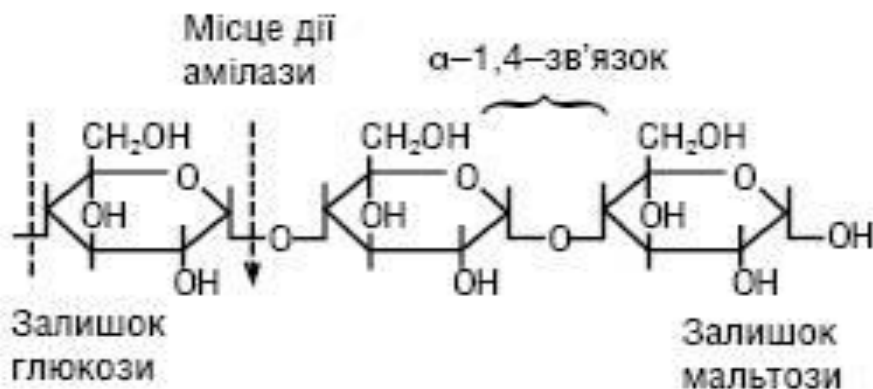
РОБОТА № 3

Ферментативний гідроліз крохмалю

Під дією ферменту амілази крохмаль гідролізується через ті ж проміжні продукти (декстрини), які утворюються при кислотному

гідролізі (див. попередню роботу), в чому легко переконатися по реакції з розчином йоду. Амілаза широко поширена в рослинах. Вельми активна амілаза міститься в солоді — подрібнених пророслих зернах злаків.

Якщо налити в пробірки однакову кількість розчину амілази і крохмального клейстеру, витримати їх при різних температурах і періодично робити проби з йодом, то за швидкістю появи проміжних продуктів можна судити про активність ферменту.



Мета роботи: провести ферментативну реакцію гідролізу крохмалю та виявити вплив температури на перебіг реакції.

Матеріали і обладнання: солод; гліцерин; 1% крохмальний клейстер; слабкий розчин I_2 в KI (20 мл концентрованого розчину на 1 л води); терези з важками; мірний циліндр; колби на 400-150 мл (3 шт.); фільтри паперові; воронка; термометр; електроплитка; штатив з пробіркам (16 шт.); піпетки на 5 мл; піпетки градуйовані на 1—2 мл (3 шт.).

Порядок виконання роботи.

Приготувати солодову витяжку, для чого помістити в колбу 10 г солоду, залити його 50 мл теплої води ($35-40^\circ C$), додати трохи гліцерину для прискорення вивільнення ферменту, перемішати, настояти не менше за півгодини і профільтрувати; фільтрат містить активну амілазу.

Налити в 14 пробірок, розставлених в 2 ряди, по 5 мл слабого розчину йоду.

Нагрівати водяну лазню до температури $45^\circ C$ (можна використовувати колбу з водою потрібної температури) і приступити до досліду. Налити в 2 чисті пробірки по 5 мл крохмального клейстеру і по 1 мл солодової витяжки і збовтати. негайно узяти піпетками з цих

пробірок по 0,5 мл рідини і внести в першу пару пробірок з розчином йоду, після чого одну пробірку з крохмалем і солодовою витяжкою (разом з піпеткою) помістити у водяну лазню (в колбу з водою 45° С), а іншу поставити в штатив. Через 3 хв. влити по 0,5 мл рідини в другу пару пробірок з розчинами йоду, ще через 2 хв. - в третю пару і т.д. Залежно від активності ферменту інтервал між узяттям проб може бути змінений; важливо тільки, щоб проби з обох пробірок бралися одночасно.

Результати занести до таблиці.

Забарвлення розчину за температури, °С	Тривалість гідролізу, хв.							
	0	3	6	9	12	15	18	21
20								
45								

Завдання: занести до таблиці результати досліду і зробити висновок про вплив температури на активність амілази та швидкість ферментативного гідролізу крохмалю.

Контрольні запитання до теми «Вуглеводи»

1. Як виникла назва “вуглеводи”?
2. На яких властивостях вуглеводів ґрунтується їх класифікація?
3. Які особливості характерні для моносахаридів?
4. Охарактеризуйте фізико-хімічні властивості та способи отримання моносахаридів.
5. Поясніть оптичну і структурну ізомерію вуглеводів.
6. Які сполуки називають епімерами?
7. Що таке туатомерні форми вуглеводів?
8. Які вуглеводи називають дисахаридами?
9. Яка властивість дисахаридів покладена в основу їх класифікації?
10. Що таке гомо- та гетерополісахариди?
11. Охарактеризуйте біологічну роль крохмалю, глікогену і целюлози.
12. Яким чином розрахувати кількість оптичних ізомерів моносахаридів?
13. Що таке D- та L-форми моносахаридів?
14. Яку назву має гідроксил, що утворюється з альдегідної (альдоз) або кетогрупи (кетоз)?

15. Пояснити поняття “інвертний цукор”.
16. Чи зброджується сахароза?
17. Пояснити що таке редукуючі і нередукуючі цукри. Якими властивостями вони володіють?
18. Які найважливіші фізико-хімічні властивості фруктози і глюкози Ви знаєте?
19. На яких властивостях вуглеводів ґрунтується їх взаємодія з купрум (II) гідроксидом?
20. В чому полягає суть реакції “срібного дзеркала”? Для яких вуглеводів характерна ця реакція?
21. Що таке інουλін; камеді?
22. Що таке пектинові речовини? Їх біологічна роль.
23. Охарактеризувати мукополісахариди.
24. Що таке агар-агар? Які його властивості?
25. Поясніть механізм кислотного та ферментативного гідролізу крохмалю.
26. Охарактеризуйте методи визначення вуглеводів.
27. Поясніть механізм процесів бродіння спиртового, молочнокислого, маслянокислого. Яке їх значення?
28. Що являє собою клейковина з біохімічної точки зору?
29. Що таке якість клейковини і як вона визначається?
30. Від чого залежить хлібопекарська якість борошна і тіста?
31. Як змінюється якість клейковини при досяганні зерна, проростанні зерна, зберіганні борошна?
32. Яка біологічна роль та використання вуглеводів у сільському господарстві?
33. Охарактеризуйте вуглеводний склад пшеничного борошна.
34. Як можна виявити присутність глюкози?
35. Як можна підтвердити наявність сахарози?

Тестові завдання до теми «Вуглеводи»

1. Вкажіть, на які три групи поділяють вуглеводи:
А. Моносахариди, полісахариди, кетогексози;
Б. Дисахариди, альдогексози, моносахариди;
В. Моносахариди, олігосахариди, полісахариди;
Г. Полісахариди, дисахариди, пентози.
2. Яка загальна формула відповідає моносахаридам:
А. $C_nH_{3n}O_n$; Б. $C_nH_{2n}O_{3n}$; В. $C_{2n}H_nO_n$; Г. $C_nH_{2n}O_n$.
3. Яка із названих сполук належить до моносахаридів:
А. Глікоген; Б. Лактоза; В. Фруктоза; Г. Сахароза.
4. Яка із названих сполук належить до пентоз:
А. Галактоза; Б. Рибоза; В. Маноза; Г. Лактоза.
5. Яка із названих сполук належить до гексоз:
А. Ксилоза; Б. Арабіноза; В. Маноза; Г. Ксилулоза.
6. Яка із названих сполук належить до альдогексоз:
А. Маноза; Б. Фруктоза; В. Рибоза; Г. Ксилоза.
7. Яка із названих сполук належить до кетогексоз:
А. Глюкоза; Б. Маноза; В. Галактоза; Г. Фруктоза.
8. Вкажіть назву сполуки, яка побудована лише із залишків глюкози:
А. Сахароза; Б. Лактоза; В. Мальтоза; Г. Хітин.
9. Вкажіть назву сполуки, до складу якої входить фруктоза:
А. Лактоза; Б. Мальтоза; В. Сахароза; Г. Крохмаль.
10. Вкажіть групу вуглеводів, яку відносять до дисахаридів:
А. Маноза, крохмаль, фруктоза;
Б. Глікоген, клітковина, рибоза;
В. Лактоза, мальтоза, сахароза;

Г. Галактоза, рибоза, дезоксирибоза.

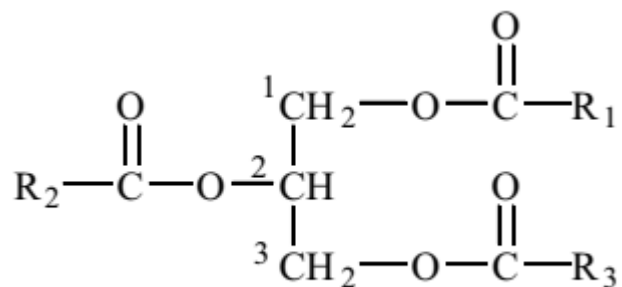
11. Які моносахариди утворюються при гідролізі сахарози?
А. Глюкоза і галактоза; Б. Фруктоза і маноза;
В. Дві молекули глюкози; Г. Глюкоза і фруктоза.
12. Вкажіть групу вуглеводів, яка належать до полісахаридів:
А. Крохмаль, сахароза, лактоза;
Б. Мальтоза, фруктоза, клітковина;
В. Целобіоза, клітковина, сахароза;
Г. Клітковина, крохмаль, глікоген.
13. Вкажіть групу полісахаридів, мономером яких є лише глюкоза:
А. Крохмаль, гіалуронова кислота, гепарин;
Б. Хондроїтинсірчана кислота, клітковина, гіалуронова кислота;
В. Клітковина, крохмаль, глікоген;
Г. Гепарин, клітковина, гіалуронова кислота.
14. Який із перерахованих полісахаридів має розгалужену будову:
А. Целюлоза; Б. Амілопектин; В. Амілоза; Г. Глікоген.
15. Які із вказаних вуглеводів є гетерополісахаридами:
А. Глікоген; Б. Гепарин; В. Клітковина; Г. Крохмаль.

ТЕМА ЛІПІДИ



РОБОТА № 1 Якісні реакції на жирні олії

До ліпідів відносять: власне жири (тригліцериди) та жироподібні речовини: фосфоліпіді, гліколіпіді, сульфоліпіді, стероїди, воски, суберин, кутин, а також пігменти, які розчиняються в неполярних розчинниках – хлорофіли, каротиноїди, фікобіліни.



Триацилгліцерол (тригліцерид)

У хімічно чистому вигляді рослинні олії безбарвні й без запаху. Забарвлення і смакові якості її залежать від наявності інших речовин (пігментів, вітамінів і т. д.). Звичайно рослинна олія має жовтий колір, що обумовлено присутністю каротиноїдів. Конопляна олія забарвлена

в зелений колір у зв'язку з наявністю хлорофілу. Кількісне визначення жирів засноване на їх фізичних і хімічних властивостях, у воді вони нерозчинні, проте добре розчиняються в органічних розчинниках: ефірі, бензолі, бензині, ацетоні, хлороформі. Ця особливість жирів покладена в основу найбільш поширених методів їх визначення.

Жири - найбільш енергетично вигідні запасні речовини, тому що при їх окисленні виділяється в 2 рази більше енергії, ніж при розпаді вуглеводів й білків. Як запасні речовини триацилгліцерини мають особливі переваги над вуглеводами і білками: вони не розчиняються у воді та клітинній рідині, не змішуються з водою і тому не суттєво змінюють фізико-хімічні властивості цитоплазми, не вступають у реакції у водному середовищі до омилення.

Від вмісту кислот залежать фізичні властивості жирів - консистенція, температура плавлення, здатність до висихання, згіркнення, омилення й харчова цінність. Температура затвердіння підвищується зі збільшенням вмісту насичених кислот.

Мета роботи: дослідити якісні реакції на жирні олії.

Матеріали і обладнання: пробірки, безводний сірчаноокислий натрій Na_2SO_4 ; спиртовий розчин лугу; бромна вода HBrO .

Порядок виконання роботи

Для якісного визначення жирних олій існують характерні реакції:

Проба на акролеїн

Дві-три краплі дослідної речовини (олія, екстракт після відгону розчинника) нагрівають у пробірці з 1,5-2 частинами безводного сірчаноокислого натрію. Поява після спінення важкої білої пари та різкого запаху акролеїну - газу, що викликає сльозотечу, вказують на наявність олії. Акролеїн - ненасичений альдегід $\text{CH}_2=\text{CHCHO}$ утворюється з гліцерину при видаленні двох молекул H_2O .

Проба на омилення

Нагрівають 2-3 краплини дослідної речовини в пробірці з 5 мл спиртового розчину лугу; відганяють спирт. Продукт, що залишився, розчиняють у воді (мило у воді розчинне). Додавання кислоти до появи кислої реакції рН викликає утворення спливаючого на поверхню водного розчину жирних кислот.

Проба з галоїдами

Ця реакція є характерною для олій, які містять ненасичені жирні кислоти. У пробірку з розчином олії в ефірі додають 1-2 краплини бромної води та струшують. Швидко зникнення жовтого забарвлення

бромної води вказує на присутність ненасичених жирних кислот.

Завдання: описати ознаки протікання якісних реакцій на жирні олії та зробити висновки.

РОБОТА № 2

Визначення кислотного числа рослинної олії

Властивості жиру характеризують за допомогою констант, або ліпідних чисел: кислотне число - кількість міліграмів КОН, необхідне для нейтралізації вільних жирних кислот, які містяться в 1 г жиру; йодне число - кількість грамів йоду, яка зв'язується з 100 г даного жиру (за місцем подвійних зв'язків); число омилення - кількість мг КОН, яка використовується при омиленні 1 г жиру при кип'ятінні з надлишком КОН у спиртовому розчині.

Кислотне число характеризує якість жиру - його збільшення при зберіганні свідчить про гідроліз з утворенням вільних кислот.

Кислотне число олії - величина непостійна, звичайно вона знижується за досягання насіння і збільшується при проростанні насіння за рахунок гідролізу жирів, а також при тривалому зберіганні насіння олійних культур. Рослинні жири містять більше вільних кислот, ніж тваринні, вміст їх залежить і від зовнішніх умов вирощування та зберігання. Беручи умовно всю кислотність жиру за олеїнову кислоту з молекулярною масою 32,3, кислотність можна виражати у відсотках вільної олеїнової кислоти.

Принцип методу базується на тому, що наважку олії розчиняють у суміші етилового спирту та сірчаного ефіру і за кімнатної температури швидко титрують 0,1 н. водним розчином їдкої калію з використанням фенолфталеїну, а забарвлені олії - з використанням тимолфталеїну. За кількістю КОН, витраченого на нейтралізацію, визначають кислотне число.

Мета роботи: визначити кислотне число рослинної олії титриметричним методом.

Матеріали і обладнання: Суміш сірчаного ефіру та 96%-го етилового спирту (за об'ємом 2:1); натрію хлорид насичений

нейтральний розчин (35 г солі на 100 мл дистильованої води); 1% розчин фенолфталеїну. Рослинна олія (соняшникова, оливкова).

Порядок виконання роботи

Наважку олії 1-5 г (чим вище очікуване кислотне число, тим менша наважка) беруть на аналітичних вагах у чисту суху колбу на 100 мл і доливають 50 мл нейтральної суміші сірчаного ефіру та спирту у співвідношенні 2:1 або 50 мл насиченого розчину солі. Злегка збовтують і розчиняють олію. Якщо при цьому олія погано розчиняється, рідину злегка нагрівають на водяній бані при збовтуванні. Охолоджують до кімнатної температури, додають 5 крапель фенолфталеїну, а для темнозабарвлених олій, де важко спостерігати перехід забарвлення, декілька крапель тимолфталеїну, і за постійного помішування швидко титрують 0,1 н. водним розчином їдкою калію а фенолфталеїном до яскраво-рожевого забарвлення, а за тимолфталеїном - до появи синього забарвлення.

За використання нейтральної суміші сірчаного ефіру та спирту розрахунок результатів проводиться за формулою:

$$X = \frac{a \cdot 56.11 \cdot 100}{m \cdot 1000}$$

де X - кислотне число мг КОН;

a - об'єм 0,1 н.лугу,

m - наважка жиру, г;

56,11 - еквівалент КОН.

При використуванні насиченого розчину солі кислотне число олії (X) в міліграмах КОН обчислюють за формулою:

$$X = \frac{V \cdot T \cdot 5.611}{m + a}$$

де V - об'єм розчину КОН (NaOH), витраченого на титрування, мл;

T - поправка до титру;

m - наважка олії, взята для визначення, г;

a – поправка;

5,611 – маса КОН, що міститься в 1 мл водного розчину КОН масової концентрації 0,1 моль/л, мг.

При титруванні водним розчином NaOH це значення замінюють 5,611 (4,0-1,4, де 1,4 - відношення молекулярних мас до NaOH). За

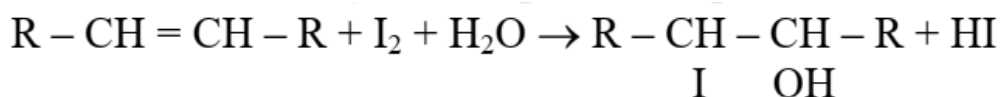
результат визначення кислотного числа олії приймають середнє арифметичне результатів двох паралельних визначень, розбіжність між якими має не перевищувати 0,1 мг КОН. При перевищенні цієї норми визначення повторюють. Відсоток вільних жирних кислот дорівнює кислотному числу, помноженому на 0,503 (0,503 - коефіцієнт для перерахунку, що включає відношення молекулярної маси олеїнової кислоти 282,3 до молекулярної маси їдкогo калію 56,11).

Завдання: описати хід роботи, визначити кислотне число олії та зробити висновки.

РОБОТА № 3 Визначення йодного числа рослинної олії

Йодне число - ступінь насиченості тому, що йод приєднується за подвійними зв'язками ненасичених жирних кислот (замість I₂ використовують реакційноздатніші речовини - ICl, IBr). Тому даний показник дає уявлення про вміст у жирі ненасичених жирних кислот. Чим вище йодне число, тим більш рідкий жир, тим він придатніший для виробництва лаків, фарб, оліфи, тим легше він окислюється, т.б. згіршає.

Йодне число жиру визначається кількістю грамів йоду, яка прореагувала з 100 г жиру. Це число вказує на вміст у жирі ненасичених жирних кислот. Визначення йодного числа засновується на реакції приєднання йоду за місцем подвійного зв'язку, яка перебігає за рівнянням:



Мета роботи: визначити йодне число в зразку рослинної олії.

Матеріали і обладнання: Жир, спиртовий розчин йоду (0,1 моль/л), 1% розчин крохмалю, розчин Na₂S₂O₃ (0,05 моль/л); 2 конічні колби (50 мл), піпетки, бюретки. Рослинна олія (соняшникова, оливкова).

Порядок виконання роботи

У першу конічну колбу поміщають наважку олії 0,1-0,2г (дослідна проба), у іншу – 0,1-0,2 мл води (контрольна проба), додають по 10 мл спиртового розчину йоду й перемішують. Через 15 хвилин вміст колб відтитровують розчином $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ до появи слабкого жовтого кольору, а потім додають 1 мл крохмалю й титрують до зникнення синього забарвлення.

Йодне число розраховують за формулою:

$$I = \frac{(B - A) \cdot f \cdot Q \cdot 100}{a \cdot 1000}$$

де: $(B - A)$ – різниця результатів титрування контрольного та дослідного зразків у розчині гіпосульфїта (0,05 моль/л) (мл);

a – наважка досліджуваної олії (г);

f – коефіцієнт поправки на титр розчину $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (0,05 моль/л);

Q – кількість I_2 (12,69 мг), еквівалентне 1 мл розчину $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (0,05 моль/л).

Завдання: описати порядок виконання роботи, результати титрування записати до зошита та зробити висновки про йодне число досліджуваної олії.

РОБОТА № 4

Визначення числа омилення та числа ефірності рослинної олії

Число омилення показує, скільки мг КОН необхідно для омилення 1 г олії, тобто скільки потрібно лугу, щоб нейтралізувати не тільки вільні жирні кислоти, але також і розкласти нейтральні тригліцериди та зв'язати жирні кислоти, що входять до їх складу.

Високе число омилення вказує на наявність низькомолекулярних кислот (у триолеїну воно складає 192). Малі числа омилення вказують на наявність більш високомолекулярних кислот, або неомилюваних речовин. Гідроліз здійснюється при нагріванні у воді до 100°C , але дуже повільно; він значно прискорюється при наявності кислоти або лугу (омилення). Внаслідок гідролізу утворюються гліцерин і солі жирних кислот - мила. Спочатку омилюється перший ефір до

дистеарину, потім другий - до моностеарину й, нарешті, одержуються гліцерин і кислота. Мило й гліцерин розчинні у воді та нерозчинні у неполярних розчинниках, що часто використовують у хімії ліпідів для розділення суміші різних ліпідів.

Число ефірності - це кількість мг КОН, необхідне для нейтралізації вивільнених при омиленні ефірних зв'язків жирних кислот у 1 г олії. Таким чином, число ефірності визначається за різницею між числом омилення та кислотним числом.

Мета роботи: визначити число омилення та число ефірності в зразку рослинної олії.

Матеріали і обладнання: аналітичні терези, бюретки; мірні конічні колби. Реактиви: етиловий спирт; 0,5 н розчин калію гідроксид; 0,5 н розчин НС1; 1% розчин фенолфталеїну. Рослинна олія (соняшникова, оливкова).

Порядок виконання роботи

Для визначення числа омилення до наважки олії 0,5-2 г, що знаходиться в конічній колбі на 150-200 мл, додається 15-30 мл 0,5 н спиртового розчину КОН. Суміш нагрівають в колбі зі зворотним холодильником або із пришліфованою довгою трубкою протягом 30 хв. на киплячій водяній лазні. Паралельно з цим для контрольного визначення наливають таку ж кількість 0,5 н розчину КОН в іншу колбу й одночасно її нагрівають разом з дослідною. Після закінчення омилення розчин у дослідній та контрольній колбах титрують 0,5 н розчином НС1 із використанням тих же індикаторів, як застосовувались при визначенні кислотного числа. Різниця між двома титруваннями перераховується на кількість мг КОН, яка витрачена на омилення 1 г олії. Це і є число омилення.

Завдання: описати хід роботи, розрахувати число омилення та число ефірності в зразку рослинної олії.

РОБОТА № 5

Визначення загального вмісту ліпідів

Метод кількісного визначення олії базується на її здатності розчинятися в деяких органічних розчинниках (діетиловий ефір, петролейний ефір та ін.). Це гравіметричний (ваговий) метод, який полягає у тому, що вміст олії визначають за різницею маси наважки рослинного матеріалу до екстракції олії органічним розчинником та після екстракції (метод Рушковського).

Мета роботи: визначити загальний вміст ліпідів.

Матеріали і обладнання: терези, апарат Сокслета; кристалізатор; діетиловий ефір; рослинний матеріал (насіння олійних культур).

Порядок виконання роботи

Беруть дві наважки подрібненого рослинного матеріалу від 1 до 10 г у залежності від вмісту в ньому олії. Так, при олійності матеріалу до 10% беруть 10-12 г, а при олійності 50-60% досить узяти 1-2 г. Наважку упаковують у пакетики з щільного фільтрувального паперу. Зважують і обов'язково підписують (простим олівцем!!!). Паперові пакети поміщають в екстрактор апарата Сокслету. У колбу цього апарата наливають 2/3 об'єму чистого (без перекисів) діетилового ефіру. Потім колбу з'єднують з екстрактором через притертий шліф і, установивши в гніздо нагрівального приладу, з'єднують екстрактор зі зворотним холодильником. Нагрівання і кипіння ефіру регулюють так, щоб за годину відбувалося 3-4 зливання. Для повної екстракції досить 12 годин.

Після закінчення екстракції апарат розбирають, зливають залишок розчину з екстрактора в колбу. Знежирені паперові пакети з досліджуваним матеріалом поміщають у широкий кристалізатор і випаровують розчинник у витяжній шафі. Після цього пакети зважують, причому зважування виконують швидко.

Різницю маси пакета з наважкою до екстракції і після екстракції відносять за рахунок олії.

Вміст олії (%) обчислюють за формулою:

$$X = (m - m_1) \cdot 100\%$$

де: m - маса пакета з наважкою (до екстракції олії), г;

m_1 - маса пакета з наважкою (після екстракції олії), г.

Результати заносять у таблицю.

Об'єкт	m - маса пакетика до екстракції, г	m ₁ - маса пакета після екстракції, г	Вміст олії, %
1.			
2.			
3.			

Завдання: записати хід роботи, розрахувати вміст олії в зразку рослинного матеріалу та зробити висновки.

Контрольні запитання до теми «Ліпіди»

1. Яка залежність між жирнокислотним складом і властивостями тригліцеридів?
2. Яку роль відіграють ліпіди в живому організмі?
3. Поясніть механізм, суть, умови, продукти окислення жирів.
4. Яке значення мають фосфоліпіди?
5. Які функції поліненасичених жирних кислот в організмі?
6. Як класифікують ліпіди за біологічними та фізико-хімічними властивостями?
7. Обґрунтуйте особливості жирнокислотного складу рослинних і тваринних жирів.
8. К можна описати фізичні властивості жирів (розчинність, щільність, емульгування, температура плавлення)?
9. Що Ви знаєте про хімічні властивості жирів (омилання, гідроліз, гідрування, полімеризація)?
10. За яким принципом класифікуються ліпіди?
11. Яка будова, властивості та біологічна роль складних ліпідів?
12. Що таке Воски?
13. Охарактеризуйте природні жири та олії.
14. У чому відмінність між твердим і рідким жиром?
15. Обґрунтуйте локалізацію ліпідів у клітині.
16. Які константи характеризують якість жирів?
17. Як відбувається гідроліз жирів?
18. Що таке згіркання жиру?
19. Охарактеризуйте полімеризацію рослинних олій.
20. Що таке кислотне число і як його визначають?
21. Як визначають йодне число, що воно характеризує?
22. Яка методика визначення перекисного числа?

Тестові завдання до теми «Ліпіди»

1. Що являють собою ліпіди (жири і жироподібні речовини):
 - А. Високомолекулярні органічні сполуки добре розчинні у воді; Б. Високомолекулярні органічні сполуки добре розчинні в органічних розчинниках;
 - В. Низькомолекулярні органічні сполуки добре розчинні в органічних розчинниках;
 - Г. Низькомолекулярні органічні сполуки добре розчинні у воді.

2. На які три групи поділяють ліпіди:
 - А. Прості, складні, похідні ліпідів;
 - Б. Складні, жироподібні, воски;
 - В. Тригліцериди, фосфоліпіди, стериди;
 - Г. Гліколіпіди, фосфоліпіди, жирні кислоти.

3. Гліцериди (нейтральні жири) побудовані з:
 - А. Двохатомного спирту етиленгліколю і вищих жирних кислот;
 - Б. Трьохатомного спирту гліцерину і вищих жирних кислот;
 - В. Трьохатомного спирту гліцерину і фосфорної кислоти;
 - Г. Одноатомного спирту етанолу і вищої жирної кислоти.

4. Які із вказаних жирних кислот є ненасиченими:
 - А. Пальмітинова, масляна, капронова;
 - Б. Арахідонова, олеїнова, лінолева;
 - В. Арахісова, пальмітинова, стеаринова;
 - Г. Бегенова, капронова, пальмітинова.

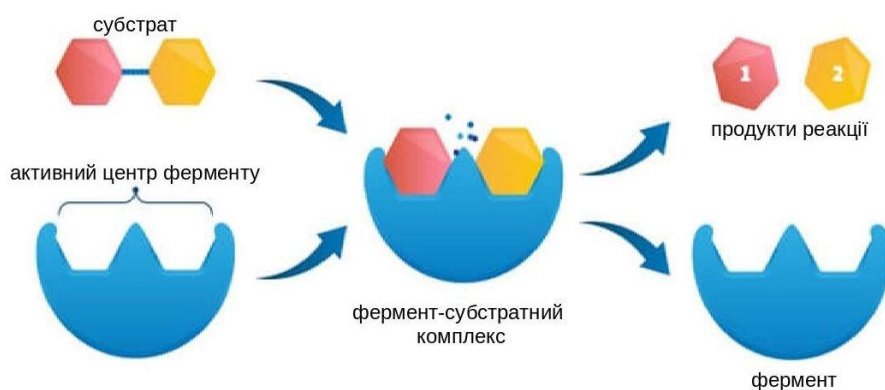
5. Що показує йодне число жиру?
 - А. Вміст насичених жирних кислот;
 - Б. Вміст вільних жирних кислот;
 - В. Кислотність жиру;
 - Г. Кількість ненасичених жирних кислот.

6. Що показує кислотне число жиру?
 - А. Кількість зв'язаних жирних кислот;
 - Б. Кількість вільних жирних кислот;
 - В. Кількість ненасичених жирних кислот;

Г. Кількість насичених жирних кислот.

7. Вкажіть назву сполук, які належать до фосфоліпідів:
- | | |
|------------------------------|----------------------------|
| А. Лецитини, кефаліни; | Б. Стерини, стериди; |
| В. Цереброзиди, гангліозиди; | Г. Гліколіпіди, гліцериди. |
8. До складу яких ліпідів входять азотисті основи холін і коламін (етаноламін)?
- | | |
|--------------------------------|----------------------------|
| А. Гліцеридів, стеринів; | Б. Лецитинів, кефалінів; |
| В. Гліколіпідів, цереброзидів; | Г. Гангліозидів, стеридів. |
9. Які тканини організму містять найбільшу кількість фосфоліпідів?
- | | |
|-----------------------------|-------------------|
| А. Печінка, мозок; | Б. Кров, шкіра; |
| В. Сполучна тканина, лімфа; | Г. М'язи, ліквор. |
10. До складу яких груп ліпідів входять вуглеводи?
- | |
|--|
| А. Кардіоліпіни, сфінгомієліни; |
| Б. Фосфатидилхоліни, ацетальфосфатиди; |
| В. Фосфатидилколаміни, тригліцериди; |
| Г. Цереброзиди, гангліозиди. |
11. Вкажіть, які сполуки відносять до стеридів?
- | |
|---|
| А. Сполуки гліцерину і фосфорної кислоти; |
| Б. Сполуки стеринів і гліцерину; |
| В. Сполуки стеринів і вищих жирних кислот; |
| Г. Сполуки гліцерину і вищих жирних кислот. |
12. Які складні білки утворюються при взаємодії ліпідів з простими білками?
- | | |
|--------------------|----------------------|
| А. Глікопротеїни; | Б. Фосфопропротеїни; |
| В. Металопротеїни; | Г. Ліпопротеїни. |

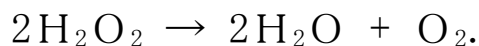
ТЕМА ФЕРМЕНТИ



РОБОТА № 1

Визначення активності каталази за методом Баха

Каталаза (клас оксидоредуктаз) прискорює реакцію розщеплення пероксиду водню на H_2O і O_2 :



У цій реакції одна молекула пероксиду водню окислюється і є донором електронів, а друга відновлюється і є акцептором електронів.

Кількість пероксиду водню, що залишився після дії на нього каталази, визначають шляхом титруванням розчином KMnO_4 у кислому середовищі:



Мета роботи: визначити активність каталази у рослинному матеріалі.

Матеріали і обладнання: крейда (карбонат кальцію CaCO_3), 10% розчин H_2SO_4 , 0,1% розчин H_2O_2 на фосфатному буфері (35,0 мл 0,2 моль/л Na_2HPO_4 і 13,6 мл 0,2 моль/л NaH_2PO_4 , рН 7,0), розчин KMnO_4 (0,002 моль/л); колби, піпетки, бюретки, порцелянові ступки, кварцевий пісок, лійки, фільтрувальний папір; рослинний матеріал (картопля, морква, капуста цибуля).

Порядок виконання роботи

Спочатку готують препарат каталази, для цього 10 г рослинного матеріалу (картопля, морква, капуста, цибуля тощо) ріжуть на маленькі шматочки та розтирають у порцеляновій ступці з невеликою кількістю кварцевого піску, додають порціями 5 раз по 10 мл дистильованої води і залишають отриману суміш для настоювання на 10 хвилин, після чого розчин фільтрують (для роботи використовують фільтрат).

Ступку промивають, промивні води фільтруючи зливають у колбу. Вміст колби доводять до об'єму 100 мл дистильованою водою.

Каталаза інактивується у кислому середовищі, тому для нейтралізації кислот рослинного матеріалу перед початком

гомогенізації у ступку на кінчику шпателя додають CaCO_3 (крейда).

В дві колби наливають по 10 мл розчину H_2O_2 . У колбу 1 (контроль) додають 5 мл розчину дистильованої води, а у колбу 2 (дослід) - 5 мл розчину H_2SO_4 . Потім у кожену колбу додають по 20 мл препарату каталази. Вміст обох колб інкубують за кімнатної температури ($20-25^\circ\text{C}$) упродовж 30 хв, перемішуючи час від часу. Після завершення інкубації вміст колб титрують розчином KMnO_4 до утворення стійкого рожевого забарвлення від надлишку KMnO_4 .

Активність каталази визначають за кількістю H_2O_2 , що розклався та розраховують за формулою:

$$A = (B - A) \cdot f \cdot Q,$$

де $(B - A)$ - різниця результатів титрування зразків 1 (контроль) та 2 (дослід) 0,002 моль/л розчином KMnO_4 , мл;

f - коефіцієнт поправки на титр 0,002 моль/л розчину KMnO_4 ;

Q - кількість пероксиду водню (1,7 мг), яка відповідає 1 мл 0,002 моль/л розчину KMnO_4 .

Завдання: описати хід роботи, розрахувати активність каталази в досліджуваному рослинному матеріалі та зробити висновки.

РОБОТА № 2

Визначення активності амілаз в проростаючих зернівках злакових культур

Амілази – однокомпонентні ферменти, які каталізують гідролітичне розщеплення $\alpha(1-4)$ -з'язків в молекулах крохмалю. У рослин вони представлені великим набором ізоферментів. До амілаз відносяться α -амілаза (КФ 3.2.1.1), β -амілаза (КФ 3.2.1.2), глюкоамілаза (КФ 3.2.1.3).

α -Амілази діють на $\alpha(1-4)$ -з'язки в молекулах крохмалю і розщеплюють їх на декстрини.

Особливо висока активність амілаз спостерігається при проростанні насіння, клубенів і луковичь, коли в них відбувається інтенсивний розпад полісахаридів крохмалю і зростає концентрація декстринів, мальтози і глюкози, які використовуються для формування тканин проростків.

Принцип методу базується на тому, що ферментний екстракт додають до розчину крохмалю при заданому рН і протягом певного часу суміш витримують при оптимальній температурі. Потім

ферментативну реакцію зупиняють шляхом інактивації амілаз, а залишившийся негідролізований крохмаль визначають колориметрично за реакцією з йодом, який даєт з ним синє-фіолетове забарвлення. За різницею результатів, отриманих в реакціях з інактивованими й активними ферментами, розраховують сумарну активність амілаз.

Мета роботи: визначити активність амілаз в проростаючих зернівках злакових культур.

Матеріали і обладнання: порцелянові ступки з пестиками, лабораторні терези, марля для фільтрування, порцелянові чашки діаметром 6–8 см; водяна баня; термостат; піпетки на 1–10 мл; мірні колби з пробками на 50, 200 и 1000 мл; крапельниця для розчину йоду; штатив з пробірками на 20 мл; фотоелектроколориметр з набором кювет, судина з темного скла для зберігання йодного реактиву. Реактиви: 1% хлористий натрій; 2% водорозчинний крохмаль; 0,2 М оцтовокислий буферний розчин (рН=5,5); 1 М розчин хлоридної кислоти; 0,3% розчин йода в 3% розчині йодистого калію; гідроксид натрію, дистильована вода; оцтовокислий кальцій.

Порядок виконання роботи

Наважку проростаючого зерна 1 г розтирають в ступці з невеликою кількістю кварцевого піску до отримання гомогенату. До суміші приливають 10 мл 1% розчину хлористого натрію і вміст ступки інтенсивно перемішують протягом 15 хв. Потім суєш з ступки переносять на марлеву тканину, укладену в 4 шари на порцелянову чашку, і віджимають рослинний екстракт, що містить амілолітичні ферменти, до чашки. Приблизно половину ферментного розчину дозатором переносимо із чашки до пробірки, додаємо декілька кристалів оцтовокислого кальцію для стабілізації α -амілаз і поміщаємо на 15 хв. до водяної бані при температурі 70°C .

Після відстоювання прозорий ферментний розчин з пробірки використовуємо для подальшого аналізу.

В 3 пробірки на 20 мл дозатором приливаємо по 3 мл ацетатного буфера ($\text{pH}=5,5$) и 2% розчину крохмалю, перемішуємо і 5 хв. витримуємо в термостаті при температурі 40°C . Потім в одну з пробірок приливаємо 1 мл ферментного екстракту з активними α - і β -амілазами, в другу пробірку 1 мл ферментного

екстракту з активними а-амілазами (після інактивзації б-амілаз), а в третю пробірку - 1 мл 1% розчину хлористого натрію, вміст пробірок перемішуємо і поміщаємо їх на 10 хв. в термостат при температурі 40° С. Через 15 хв. в пробірки приливаємо по 2 мл 1 М розчину хлоридної кислоти для інактивзації амілаз.

Далі визначаємо вміст негідролізованого крохмалю. Для цього з кожної пробірки відбираємо проби по 0,5 мл і вносимо їх в мірні колби на 50 мл, в які заздалегідь наливаємо по 40-45 мл дистильованої води і 1 мл 0,1 М розчину хлоридної кислоти. Вміст колб перемішуємо, доводимо об'єм до мітки водою.

Потім в колби додаємо по 3 краплі розчину йоду в йодиді калію і перемішуємо знову. На фотоелектроколориметрі при довжині хвилі 595 нм вимірюємо оптичну густину розчину в кюветах с товщиною 1 см.

Сумарну активність амілолітичних ферментів розраховуємо за формулою:

$$A_{\alpha+\beta} = \frac{(D_3 - D_1) \cdot 60 \cdot 10}{D_3 \cdot l \cdot t},$$

де A_{a+b} – сумарна активність амілаз в мг гідролізованого крохмалю за 1 хв в розрахунку на 1 г рослинної маси;

D_3 – оптична густина забарвленого розчину у варіанті без додавання к крохмалю ферментного екстракту;

D_t – оптична густина забарвленого розчину у варіанті з додаванням к крохмалю ферментного екстракту, що містить активні амілази;

60 – кількість крохмалю в 3 мл 2% розчину, мг;

10 – загальний об'єм ферментного екстракту, отриманого з наважки рослинного матеріалу, мл;

1 – об'єм ферментного екстракту, взятий для аналізу, мл;

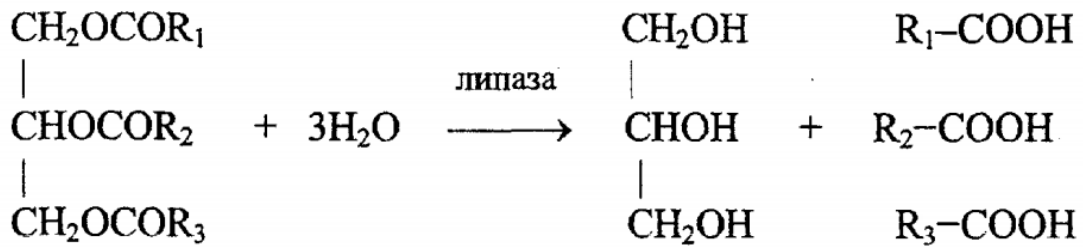
t – время ферментативної реакції в хвилинах.

Якщо у варіантах з додаванням активних ферментів весь крохмаль за час реакції гідролізується, то слід зменшити час ферментативної реакції.

Завдання: описати хід роботи, визначити сумарну активність амілаз, та зробити висновки.

Визначення ліполітичної активності насіння

Ліпази відносяться до класу ферментів «Гідролази» (підклас естераз) і дуже широко розповсюджені в рослинах і клітинах мікроорганізмів. За їх участі відбувається гідролітичний розпад ацилгліцеринів жиру, тому ці ферменти об'єднани загальною назвою - *триацилгліцеролліпаза* (КФ 3.1.1.3). В результаті дії ліпаз утворюються гліцерин та вільні жирні кислоти:



Для культур, які накопичують жири як запасний матеріал (льон, соняшник, рицина) дуже важливим показником є ліполітична активність насіння. Від цього показника залежить життя цих рослин на початкових етапах розвитку, коли рослина ще живиться гетеротрофно, за рахунок поживних речовин насіння.

Важливим моментом у визначенні ліполітичної активності є виділення ліпази у відносно чистому вигляді. Для цього її активують, створивши середовище з відповідною кислотністю. Для різних видів і навіть сортів вона різна, але знаходиться в діапазоні рН 4,2 - 5,2. Активна ліпаза переходить безпосередньо в шар жиру, де починає розщеплювати його. Методом центрифугування відділяють шар жиру від водного. З шару жиру осаджують активну ліпазу насиченим розчином NaCl. Активність ліпази визначають титруванням 0,2% розчином NaOH.

Мета роботи: визначити ліполітичну активність в насінні олійних культур.

Матеріали і обладнання: центрифуга на 15 тис. обертів; пластмасові центрифужні пробірки з кришками на 10 мл; термостат; аналітичні терези; бюретка для титрування на 10 мл; колби на 50 мл; пробірки; ступки або випарювальні чашки; цитрат-фосфатний буфер з рН 4,6 (51,8 мл 2,87% розчини Na₂HPO₄ і 48,2 мл 2,1% розчини лимонної кислоти (для льону олійного); цитрат-фосфатний буфер з рН 4,8 (50,7 мл 2,87% розчини Na₂HPO₄ і 49,3 мл 2,1% розчини лимонної кислоти (для рицини); 0,5 % розчин фенолфталеїну на 60% C₂H₅OH; 0,2% розчин NaOH для титрування; насичений розчин NaCl, який

містить 0,05% тритон X-100. Насіння льону олійного, соняшнику або ріцини.

Порядок виконання роботи

Екстракція кислій ліпази насіння

Наважку (5г) подрібненого насіння розтирають з невеликою кількістю цитрат-фосфатного буферу до гомогенного кашоподібного стану. Потім цю суміш поміщають в центрифужні пробірки і центрифугують при 15 тис. об/хв. 15 хвилин.

Після центрифугування суміш розділяється на три шари: верхній - жировий, який містить слиз, жир та ліпазу; середній - водний, який містить водорозчинні речовини; нижній - осад.

Для виділення кислій ліпази беруть верхній жировий шар, додають до нього насичений розчин NaCl, який містить 0,05% тритон X-100, щоб розділити слиз, жир та ліпазу (1:1 за об'ємом), збовтують суміш і центрифугують 15 хв. при 13 тис. об/хв. Утворюються 4 шари: верхній, який містить слиз; жировий шар, який містить олію; водний і осад (ліпаза). Для аналізу потрібен тільки жировий шар і осад ліпази, який розчиняють в 0,5мл буферу.

Визначення ліполітичної активності

В дві пробірки поміщають по 0,5 мл цитрат-фосфатного буфера, по 0,5 мл розчину ліпази і по 3 краплі олії, яка була взята з жирового шару. Одну з цих пробірок поміщають на інкубацію в заздальгідь нагрітий до 37°C термостат на 1 годину (дослід). До іншої пробірки (контроль) додають 2 краплі 0,5% розчину фенолфталеїну (розчин при цьому каламутніє) і титрують 0,2% розчином NaOH до появи стійкого блідо-рожевого забарвлення.

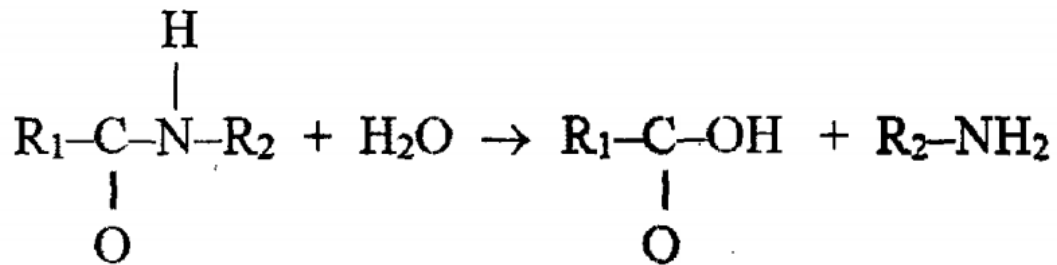
Після інкубації титрується і дослідна проба. За різницею між витраченим на титрування досліді і контролю NaOH розраховується ліполітична активність (мл\год).

Завдання: описати порядок виконання роботи, результати титрування записати до зошита та зробити висновки про активність ліпази в досліджуваному насінні олійної культури.

РОБОТА № 4

Визначення активності протеолітичних ферментів

Протеолітичні ферменти - велика група ферментів, які каталізують розщеплення пептидних зв'язків у білкових макромолекулах та пептидах за схемою:



Протеази поділяють на *протеїнази* и *пептидази*. Протеїнази каталізують гідролітичне розщеплення пептидних зв'язків в молекулах белків, а пептидази діють тільки на пептиди.

Мета роботи: визначити активність протеаз у дослідних рослин.

рослинний матеріал - проростаюче насіння, вегетуючі дослідні рослини за різних умов культивування.

Матеріали і обладнання: пісок, порцелянова ступка, ваги, термостат, колби, фотоколориметр. Фосфатний буфер рН 5,6; толуол; реактиви для визначення амінного азоту (див. роб. 5, розділ «Амінокислоти. Білки»).

Порядок виконання роботи

Наважку 1-2 г рослинного матеріалу розтирають у порцеляновій ступці з 10 мл фосфатного буферу та переносять у конічні колби на 50мл (контрольна та дослідна проби). Контрольну колбу кип'ятять на водяній бані 5-7 хвилин для інактивації ферментів. Потім в контрольну та дослідну колби додають 5-9 краплин толуолу та ставлять у термостат за температури 37 °С на добу (24 години) для гідролізу білку. Після інкубації дослідну колбу кип'ятять 5-7 хвилин, щоб інактивувати протеази. Потім вміст колб переводять у мірні на 25 мл колби, доводять об'єм до риски водою, ретельно перемішують та фільтрують. Беруть по 5мл фільтрату та визначають вміст амінного азоту (див. роб. 5, розділ «Амінокислоти та білки»). Активність протеолітичних ферментів розраховують за формулою:

$$A = \frac{D - K}{t \cdot m}$$

де: A - активність протеаз, мг амінного азоту / г сирової маси за год.
 D - вміст амінного азоту в дослідній пробі, мг/мл;
 K - вміст амінного азоту у контрольній пробі, мг/мл;
 t - час гідролізу, год;
 m - наважка рослинного матеріалу, мг.

Результати заносять у таблицю:

Об'єкт	Наважка, мг	D - оптична густина розчину		A - активність ферменту, мг/г*год.
		K	A	
1.				
2.				

Завдання: описати хід роботи, результати занести до таблиці та зробити висновки про активність протеолітичних ферментів у тканинах досліджуваних рослин.

Контрольні запитання до теми «Ферменти»

1. Надайте поняття про ферменти як про біологічні каталізатори.
2. Які спільні та відмінні риси між ферментами і неорганічними каталізаторами?
3. Яка хімічна природа ферментів? Наведіть докази їх білкової природи.
4. Які особливості їх будови простих та складних ферментів?
5. Дайте визначення поняттям активний та аллостеричний центр ферментів.
6. У чому різниця між одно- та багатоцентровими ферментами?
7. Що таке мультиферментні комплекси? Що таке
8. Дайте визначення поняттю ізоферменти. В чому полягає особливість їх будови та функцій?
9. Яка будова та функції кофакторів? Які особливості та роль їх у процесах біокаталізу?
10. Що таке ативатори ферментів?
11. Охарактеризуйте механізм дії ферментів.
12. Поясніть вплив температури на активність ферментів.
13. Як впливає рН середовища на активність ферментів?
14. Охарактеризуйте процеси активації і гальмування ферментів.
15. Що таке інгібітори та активатори ферментів?
16. Чим різняться конкурентне і неконкурентне гальмування

- ферментативної активності?
17. Що таке специфічність ферментів? Які види специфічності Ви знаєте?
 18. Опишіть особливості дії ферментів у живій тканині рослин.
 19. Назвіть одиниці виміру активності ферментів.
 20. Охарактеризуйте ферменти у зерні хлібних злаків.
 21. Як впливають ферменти на хлібопекарські якості борошна?
 22. Що таке автолітична активність зерна і борошна і від чого вона залежить?
 23. Як визначається автолітична активність зерна і борошна?
 24. Опишіть, як можна виявити фермент уреазу?
 25. Як визначається активність уреазу у бобових культур?

Тестові завдання до теми «Ферменти»

1. Доказом білкової природи ферментів є:
 - А. Здатність до осадження;
 - Б. Взаємодія з кислотами;
 - В. Висока молекулярна маса;
 - Г. Здатність до окиснення.

2. Спільними властивостями ферментів і неорганічних каталізаторів є:
 - А. Термолабільність;
 - Б. Залежність від ефекторів;
 - В. Специфічність дії;
 - Г. Каталіз лише термодинамічно можливих реакцій;
 - Д. Залежність від кількості субстрату.

3. Прості ферменти складаються із:
 - А. Протетичної групи;
 - Б. Кофактора;
 - В. Поліпептидного ланцюга;
 - Г. Коферменту.

4. Який фермент володіє абсолютною специфічністю до субстрату:

12. Для якого класу ферментів коферментом є КоASH:

А. Гідролаз;

Б. Трансфераз;

В. Оксидоредуктаз;

Г. Лігаз;

Д. Ліаз.

ТЕМА

РЕЧОВИНИ ВТОРИННОГО ПОХОДЖЕННЯ



РОБОТА № 1

Визначення вмісту органічних кислот

Органічні кислоти поширені в рослинах і часто у великих кількостях накопичуються в листках, плодах, стеблах та інших органах. У рослинній клітині органічні кислоти можуть знаходитися в

цитоплазмі, беручи участь в обміні речовин або накопичуватися в клітинному соку, причому як у вільному стані/ так і у вигляді солей калію, натрію і кальцію, а також у вигляді складних ефірів. Органічні кислоти утворюються шляхом неповного окислення вуглеводів у багатьох процесах обміну речовин в рослині: диханні, бродінні, фотосинтезі і фотодиханні. Ці сполуки пов'язують метаболізм вуглеводів, білків, ліпідів і речовин вторинного походження. У рослин САМ-метаболізму органічні кислоти беруть участь у специфічних реакціях фотосинтезу. Вони визначають рН клітинного соку, знешкоджують амоніак, який накопичується за стресових умов, зв'язують катіони і беруть участь в інших важливих метаболічних реакціях. Найпоширеніші органічні кислоти - щавлева, яблучна, лимонна, винна та ін.

Визначення базується на титруванні водного екстракту з рослинного матеріалу розчином 0,1 н. лугу в присутності індикатора. Кислотність розраховують у відсотках для однієї з головних органічних кислот, що входять до складу об'єкта.

Мета роботи: визначити та порівняти вміст органічних кислот у рослинному матеріалі.

Матеріали і обладнання: Пісок, порцелянова ступка, терези, водяна лазня, колби, бюретки; 0,1 н розчин лугу відомого титру; індикатор - 1% спиртовий розчин фенолфталеїну. Свіжі подрібнені плоди, сік, листки сукулентів тощо.

Порядок виконання роботи

Зі свіжих подрібнених плодів чи інших органів рослин відважують проби 1-2 г і готують водні витяжки. Для цього наважку переносять у порцелянову ступку, додають невелику кількість кварцового піску і розтирають до однорідного стану. Розтерту масу кількісно переносять у конічну колбу на 100 мл, доливають 50 мл гарячої дистильованої води і нагрівають протягом 30 хв. на водяній бані при 75-80 °С. Потім колбу охолоджують, переносять її вміст у мірну колбу на 100 мл, декілька разів ополіскуючи колбу, де проходила екстракція. Об'єм витяжки доводять водою до риски (100 мл) і, ретельно перемішавши вміст, фільтрують в будь-яку іншу посудину. Потім відбирають по 10 мл витяжки у конічні колби і титрують розчином 0,1 н лугу в присутності 4-5 крапель фенолфталеїну до стійкого рожевого забарвлення. Його встановлення у слабозабарвлених рідинах дуже полегшується, якщо використовувати титрування зі «свідком». Для цього поруч з колбою, у якій титрують забарвлену витяжку,

розташовують колбу «свідок» з такою ж кількістю витяжки і фенолфталеїну.

Вміст органічних кислот (X %) обчислюють за формулою:

$$X = \frac{a \cdot V}{V_1 \cdot m} \cdot 100\%$$

де: a - кількість 0,1 н лугу, яка пішла на титрування, мл;

V - загальний об'єм витяжки, мл;

V_1 - об'єм витяжки, що взятий для титрування, мл;

m - маса наважки, мг.

Результат представляють у концентрації якої-небудь з головних переважаючих органічних кислот; для цього множать на відповідний коефіцієнт:

1 мл 0,1 н розчину лугу відповідає:

- 7,5 мг винної кислоти;
- 6,7 мг яблучної кислоти;
- 6,4 мг лимонної кислоти;
- 4,5 мг щавлевої кислоти.

Результати дослідів фіксують у таблиці.

Об'єкт	Наважка, мг	V - об'єм лугу, мл	Переважаюча органічна кислота	Вміст органічних кислот, %
1.				
2.				
3.				

Завдання: описати хід роботи, визначити вміст переважаючої органічної кислоти, результати занести до таблиці та зробити висновки.

РОБОТА № 2

Визначення сумарного вмісту фенольних сполук

Утворення фенольних сполук - одна з характерних рис саме

рослинного організму. Величезна різноманітність природних фенольних сполук (до цього часу вже відомо понад тисячу) можна розподілити на три основних групи, виходячи зі структури вуглецевого остова:

$C_6 - C_1$ - сполуки - фенольні кислоти (ванілінова, галова, бузкова, протокатехова, гідроксибензойна кислоти);

$C_6 - C_3$ - сполуки - гідроксикоричні кислоти (кумарова, кавова, ферулова) і кумарини;

$C_6 - C_3 - C_6$ - сполуки – флавоноїди (катехіни, антоціани, халкони та ін.).

Роль фенольних сполук у метаболізмі рослинного організму важлива і різноманітна. Електротранспортні ланцюги мітохондрій і хлоропластів як обов'язкові компоненти містять переносники електронів фенольної природи - убіхінони і пластохінони. Фенольні сполуки можуть виступати в ролі антиоксидантів, стабілізуючи мембрани, нативність яких порушується за стресових умов. Багато фенольних сполук здатні впливати на активність ферментів, підвищуючи або знижуючи її. Фенольні речовини можуть брати участь у регуляції процесів запилення, запліднення, поширення та проростання насіння. Дуже важлива роль фенолів у захисних реакціях рослин. Чисельні алелопатичні речовини, які виділяються рослиною через кореневу систему або надземною частиною рослини, і регулюють конкурентні взаємини між рослинами, також представлені фенольними сполуками.

Методи визначення суми фенольних сполук є лише приблизними, напівкількісними. Однак вони знаходять широке застосування для порівняльних цілей чи у виробничих умовах.

Мета роботи: визначити та порівняти вміст фенолів у рослинному матеріалі.

Матеріали і обладнання: пісок, порцелянова ступка, ваги, водяна лазня, колби, бюретки; індигокармін (1 г індигокарміну розчиняють у 50 мл H_2SO_4 і доводять водою до 1 л); 1н. $KMnO_4$ (фіксанал) чи 3,16 г $KMnO_4$ розчиняють у 1л води; суха вегетативна маса розповсюджених лікарських рослин.

Порядок виконання роботи

Наважку 0,5-1 г сухого матеріалу або 2-4 г сирової рослинної маси подрібнюють, розтирають у порцеляновій ступці, переводять у мірну колбу на 100 мл, додають 70 мл води і витримують на киплячій водній

бані 15 хв. за інтенсивного перемішування. Екстракт охолоджують, доводять водою до мітки та фільтрують. 10 мл отриманого фільтрату переносять у конічну колбу, додають 50 мл води і 10 мл індигокарміну. Отриману суміш титрують 0,1н. розчином KMnO_4 за інтенсивного перемішування до появи золотаво-жовтого забарвлення.

Для більшої точності паралельно проводять контрольне титрування, у якому 10 мл екстракту замінюють на 10 мл води та отриманий результат віднімають від основного (дослідного).

Сумарний вміст фенольних сполук (X,%) розраховують за формулою:

$$X = \frac{(D - K) \cdot 4.16 \cdot V}{V_1 \cdot m} \cdot 100\%$$

де: D- кількість мл 0,1 н KMnO_4 , що йде на титрування дослідної проби;

K - кількість мл 0,1 н KMnO_4 , що йде на контрольне титрування;

V - загальний об'єм витяжки, мл;

V_1 - об'єм витяжки, взятої для аналізу, мл;

m - наважка рослинного матеріалу, мг;

4.16 - коефіцієнт для переведення 1мл 0,1н. KMnO_4 у 1 мг фенолів (коефіцієнт розрахований для фенолів чаю).

Результати заносять у таблицю.

Об'єкт	Наважка, мг	V - об'єм, що пішов на титрування, мл	Вміст фенолів, %
1.			
2.			
3.			

Завдання: описати хід роботи, визначити загальний вміст фенолів, результати занести до таблиці та зробити висновки.

РОБОТА № 3

Вплив рН середовища на зміну забарвлення антоціанів

Крім фотосинтетичних пігментів у рослинному організмі важливу

роль відіграють водорозчинні пігменти клітинного соку - *антоціани*, які обумовлюють в рослинах усі відтінки червоного, синій та фіолетовий кольори. Антоціани містяться в рослинах винятково у формі глікозидів, у яких залишки цукрів - глюкози, галактози або рамнози пов'язані з забарвленим агліконом антоціанідином. З антоціанідинів найбільш поширені в рослинах цианідин, пеларгонідин і дельфінідин. Найчастіше в одній рослині міститься серія антоціанів, побудованих на основі одного чи декількох антоціанідинів. Всі антоціани містять у гетероциклічному кільці оксоній (чотирьохвалентний кисень) і завдяки цьому легко утворюють солі. Різноманітність забарвлення антоціанів залежить від комплексоутворення з іонами металів (К-солі посилюють пурпурове забарвлення, Са- і Mg-солі - синє), природи залишків антоціанідина (метилування додає червоний відтінок), копігментації (суміші пігментів), значення рН середовища та інших факторів.

Мета роботи: дослідити вплив рН середовища на зміну забарвлення антоціанів.

Матеріали с обладнання: пісок, пробірки, порцелянова ступка, паперовий фільтр, універсальний індикатор; 10%-ний розчин НС1; 10%-ний розчин КОН; капуста червона (*Brassica oleracea var. oleracea L.*)

Порядок виконання роботи

Готують водну витяжку пігментів. Для цього 2-5 г сирого рослинного матеріалу подрібнюють та розтирають у порцеляновій ступці з додаванням невеликої кількості кварцового піску до однорідного стану. Кілька разів змиваючи вміст ступки дистильованою водою, кількісно переносять його в мірну колбу на 25 мл і доводять водою до риски. Вміст добре перемішують і фільтрують через паперовий фільтр. Фільтрат по 3мл розливають у 6 пробірок. Додаючи розчини кислоти та лугу, за допомогою універсального паперового індикатора, готують розчини з наступними значеннями рН - 3,0; 5,0; 7,0; 9,0; 11,0. Відзначають зміни забарвлення пігментів у залежності від рН розчину.

Результати оформляють у вигляді таблиці.

Об'єкт	Забарвлення екстракту при рН				
	3,0	5,0	7,0	9,0	11,0
1.	червоний				
2.					

Завдання: описати хід роботи, результати занести до таблиці та зробити висновки про те, як зміна рН впливає на забарвлення антоціанів.

РОБОТА № 4

Загальні якісні реакції на алкалоїди

Алкалоїди - це азотовмісні, в основному гетероциклічні органічні сполуки, які зустрічаються в багатьох рослинах. Відомо близько 10 000 алкалоїдів. Вони концентруються в різних органах рослин в клітинному соку, де утворюють солі з органічними кислотами: щавлевою, яблучною, лимонною, винною. Всі алкалоїди є надзвичайно фізіологічно активними речовинами, що сильно впливають на тваринний організм, серед них багато отруйних. Більшість з алкалоїдів діє на нервову систему: у малих дозах вони мають збудливу дію, а у великих - гнітючу.

За своєю будовою алкалоїди дуже різноманітні. їх підрозділяють на три основні групи: 1) *справжні алкалоїди*, 2) *протоалкалоїди*, 3) *псевдоалкалоїди*.

Справжні алкалоїди синтезуються з амінокислот і обов'язково містять азот у складі гетероциклу. Це найбільш різноманітна група алкалоїдів, яку в свою чергу класифікують за хімічною природою азотистого гетероциклу, що входить до їхнього складу. Виділяють наступні групи справжніх алкалоїдів:

- 1 - похідні піридину (нікотин, норнікотин, анабазин);
- 2 - похідні піролідину (атропін, кокаїн);
- 3 - похідні хіноліну та ізохіноліну (хінін, морфін);
- 4 - похідні індолу (ерголінові алкалоїди, стрихнін);
- 5 - похідні пурину (кофеїн, теобромін).

Алкалоїди в процесі життєдіяльності рослини піддаються ферментативним перетворенням і активно беруть участь в обміні речовин. Встановлено тісний взаємозв'язок метаболізму алкалоїдів із азотним обміном рослинного організму. Багато алкалоїдів безпосередньо синтезуються з амінокислот (наприклад: морфін - з тирозину і метіоніну, гіосциамін - з орнітину і фенілаланіну). Алкалоїди можуть бути запасною і транспортною формою азоту, брати

участь у процесах знешкодження аміаку, бути резервом амінокислот. Алкалоїди здатні регулювати кислотність та іонний склад клітинного соку, виконувати певну роль в імунітеті рослинного організму.

Таблиця - Вміст алкалоїдів у різних рослинах (%на суху масу)

Рослина	Орган рослини	Головний алкалоїд	Вміст, %
Чай	Листки	Ког'єїн	0,65 - 4,1
Тютюн	Листки	Нікотин	0-3,0
Махорка	Листки	Нікотин	1,59 -11,0
Хінне дерево	Кора	Хінін	0-15
Лобелія	Листки	Лобелін	0,2 - 0,61
Беладона	Листки	Антропін	0,09 -1,31
Скополія	Корені	Скополамін	0,28 - 3,6
Люпин	Насіння	Люпінін і люпанін	0-3,5
Какао	Насіння	Кофеїн і теобромін	1,5 - 2,0
Картопля	Бульби	Соланін	27 мг %
Томати	Плоди	Томатин	30-70 мг %
Мак	Коробочки	Морфін	0,2 - 1,1

Алкалоїди дають багато загальних реакцій з різними речовинами. Ці речовини відомі під загальною назвою *алкалоїдних реактивів*. За характером дії на алкалоїди їх можна розподілити на ті, що утворюють осад, та ті, що викликають забарвлення розчинів.

Мета роботи: дослідити якісні реакції на алкалоїди у рослинному матеріалі.

Матеріали і обладнання: терези, водяна лазня, колби, центрифуга, порцелянові чашки; рослинний матеріал, що містить алкалоїди - тютюн, кофе, чай.

Реактиви для осадження алкалоїдів:

1. Розчин йоду в розчині йодистого калію (реактив Люголю) утворює з алкалоїдами червоно-коричневий осад. Додавання цього розчину (1 г йоду в 10 мл 20 %-го розчину КІ доводять Н₂О до 100 мл) до витяжки алкалоїдів дає *червоно-коричневий осад*.

2. Водний розчин 10 % чи 20 % кремнійвольфрамової кислоти (SiO₂*12WO₃*2H₂O). 5-10 крапель цього реактиву у підкисленій витяжці алкалоїдів викликає утворення *аморфного осаду*.

3. Водний розчин 10-12% фосфорно-вольфрамової кислоти Н₃РO₄*12WO₃*2H₂O (реактив Шейблера). Підкислені витяжки алкалоїдів утворюють з цим реактивом *білі аморфні осад*.

Реактиви для забарвлення алкалоїдів:

При одержанні реактивів для забарвлення найчастіше використовують концентровану H_2SO_4 з додаванням:

- 1) малої кількості HNO_3 ;
- 2) молібденової кислоти (до 10мл H_2SO_4 додають 0,1-0,5 г молібденовокислого амонію);
- 3) K_2CrO_4 (двухромовокислий калій) додають до концентрованої H_2SO_4

Одержання витяжки алкалоїдів

Алкалоїди виділяють з рослинного матеріалу у вигляді солей шляхом обробки матеріалу відповідним розчинником (водою, спиртом) з додаванням до них невеликих кількостей (до 1-2 %) будь-якої кислоти (оцтової, хлоридної, сульфатної та ін.) чи у вигляді вільних основ. В останньому випадку алкалоїди, що знаходяться в рослинах у вигляді солей органічних кислот, виділяють спочатку шляхом обробки їх лугом (окисом Mo , аміаком, содою, $NaOH$ та ін.), а потім екстрагують одним з органічних розчинників (ефіром, бензолом, хлороформом, діхлоретаном, петролейним ефіром та ін.).

Порядок виконання роботи

Беруть наважку рослинного матеріалу 100-500 мг сухої чи 1-5 г сирової маси. Ретельно розтирають у порцеляновій ступці, додають дистильовану воду, потім переносять у конічну колбу та приливають 3-5 мл будь-якої кислоти (оцтової, хлоридної, сульфатної та ін.) та екстрагують на киплячій водяній бані протягом 30 хвилин, періодично збовтуючи вміст колби. Після екстракції колби охолоджують, доводять водою до риски та фільтрують. Фільтрат - екстракт алкалоїдів, з яким проводять якісні реакції, використовуючи реактиви для осадження та забарвлення.

Реакції з реактивами на алкалоїди проводять у порцелянових чашках у звичайних умовах чи при підігріванні на водяній бані. Пробу досліджуваної витяжки поміщають у порцелянову чашку і після випаровування розчинника до залишку скляною паличкою додають краплю реактиву. Для порівняння забарвлень, які утворюються, корисно паралельно з випробовуванням розчином провести реакцію з розчином чистого алкалоїду.

Результати заносять у таблицю, відмічаючи знаком «+» або «-» відповідно наявність чи відсутність реакції зі специфічним реактивом на алкалоїди.

Об'єкт	Реактиви для осадження	Реактиви для забарвлення
--------	------------------------	--------------------------

	I ₂ В КІ	Кремній-вольфрамова кислота	Фосфорно-вольфрамова кислота	H ₂ SO ₄ + HNO ₃	H ₂ SO ₄ + молібденова кислота	H ₂ SO ₄ + K ₂ CrO ₄
1.	+	-	+++	++	+	-
2.						
3.						
4.						

Завдання: описати хід роботи, результати занести до таблиці та зробити висновки про наявність чи відсутність якісної реакції з реактивами на алкалоїди.

Контрольні запитання до теми «Речовини вторинного походження»

1. Які сполуки називають фенолами? Наведіть їхню класифікацію.
2. За яким принципом класифікуються вторинні метаболіти?
3. Охарактеризуйте біосинтез рослинних фенолів.
4. Які функції фенольних сполук у життєдіяльності рослинного організму?
5. Які фактори можуть впливати на забарвлення антоціанів?
6. Охарактеризуйте полімерні фенольні сполуки та наведіть класифікацію дубильних речовин.
7. Які речовини називають глікозидами? Що таке аглікон ?
8. Який аглікони мають - "серцеві глікозиди"?
9. Наведіть класифікацію глікозидів.
10. Що таке алкалоїди?
11. Що таке терпеноїди?
12. Що таке ефірні олії?
13. Охарактеризуйте алкалоїди. Принцип класифікації алкалоїдів.
14. Наведіть класифікацію істинних алкалоїдів.
15. Яка роль алкалоїдів у метаболізмі рослинного організму?
16. Перелічіть загальні реактиви на алкалоїди.
17. Які регулятори росту та розвитку рослин Ви знаєте?
18. Яка роль органічних кислот в метаболізмі рослинної клітини?
19. Охарактеризуйте прогормони? Яка їх роль в живому організмі?

20. Що таке антиоксиданти? Яка їх роль в живому організмі?
21. Як впливають процеси формування активних форм Оксигену на живий організм?

Тестові завдання до теми «Речовини вторинного походження»

1. Назвіть органічні кислоти, на які ведуть перерахування при титруванні кислотності плодів, ягід, овочів:
а) бурштинова, б) яблучна, в) винна, г) щавлева, д) лимонна, е) пірвиноградна, ж) щавлевооцтова.
2. Назвіть рослини, у яких багато яблучної, лимонної, щавлевої кислоти:
а) горобина, б) яблука, в) виноград, г) сукуленти, д) махорка, е) щавель, ж) тютюн, з) лимон.
3. Назвіть органічні кислоти, що лежать в основі утворення амінокислот аспарагінової, глутамінової, аланіну:
а) гліоксилева, б) пірвиноградна, в) а-кетоглутарова, г) щавлевооцтова, д) яблучна.
4. Укажіть метаболічні шляхи утворення органічних кислот у рослинах:
а) гліколіз, б) синтез гліцерину, в) розпад білків, г) дезамінування амінокислот, д) цикл Кребсу, е) орнітиновий цикл.
5. Які з перерахованих речовин належать до флавоноїдів:
а) кумарини, б) ванілін, в) антоціани, г) катехіни, д) амігдалін, е)

халкони.

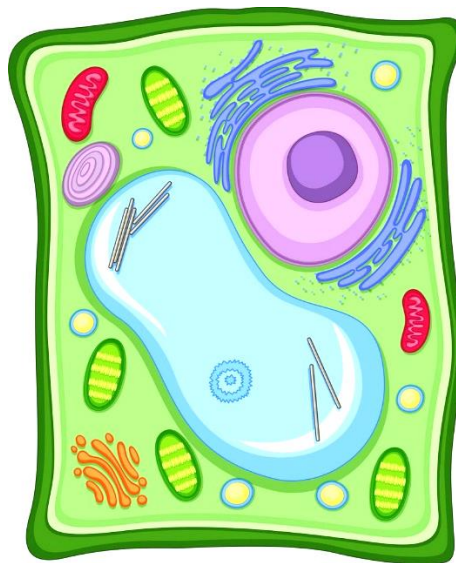
6. Які з перерахованих сполук є ациклічними, які циклічними:
а) камфора, б) гераніол, в) пінен, г) борнеол, д) цитранелол?

7. Які з перерахованих сполук мають терпеноїдну структуру:
а) *a*-каротин, б) камфора, в) амігдалін, г) пінеол, д) гераніол?

8. Які з зазначених сполук відносяться до алкалоїдів:
а) кофеїн, б) морфін, в) амігдалін, г) пінен, д) нікотин?

РОЗДІЛ ІІ ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН

ТЕМА ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИННОЇ КЛІТИНИ



Порівняння проникності клітинних мембран для різних речовин. Стійкий і тимчасовий плазмоліз.

Виборча проникність мембран забезпечує проходження через них молекул води, перешкоджає проникненню розчинених у воді речовин і обумовлює явище плазмолізу при дії на клітину гіпертонічного розчину.

Плазмоліз – це відокремлення протопласта від оболонки рослинної клітини. Явище протилежне тургору та деплазмолізу. Причиною плазмолізу є зменшення об'єму вакуолі через втрату внутрішньоклітинної води, під дією гіпертонічних розчинів або плазмолітиків: сахарози, KNO_3 , NaCl , KCl , $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, концентрація яких більша, ніж вакуолярного соку клітини.

Плазмоліз можливий лише в життєздатній та функціонально-цілісній клітині. На початковій стадії плазмолізу можна побачити тоненькі тяжі (тягнуться від поверхні протопласта до пор оболонці) – плазмодесмові нитки або нитки Хехта, які свідчать про в'язкість та еластичність цитоплазми.

Якщо ж молекули розчиненої речовини через мембрану проходять, але повільніше, ніж молекули води, то плазмоліз, що почався, потім зникає.

Процес повернення клітини до нормального осмотичного стану (тургору) у гіпотонічному розчині називається деплазмолізом. Деплазмоліз відбувається в результаті поступового проникнення розчиненої

речовини в клітину, зміни водного потенціалу зовні й усередині, а також надходження води в клітину із зовнішнього розчину по градієнту водного потенціалу.

Мета роботи: визначити ступень плазмолізу за дії розчину сахарози та карбаміду.

Матеріали і обладнання: Мікроскоп, предметні і покривні скельця, препарувальна голка, скальпель або лезо безпечної бритви, 1М розчин сахарози та 1М розчин карбаміду, лист елодеї, цибулина синьої ріпчастої цибулі.

Порядок виконання роботи

На два предметні стекла наносять по краплі розчину: на одне - 1М розчин сахарози, на інше - 1М розчин карбаміду. У кожену краплю поміщають лист елодеї, накривають покривним склом і розглядають під мікроскопом спочатку при малому (об'єктив x8), потім при великому збільшенні (об'єктив x40). Знаходять ділянки листа, у яких добре видні плазмолізовані клітини. Відзначають час початку плазмолізу (початок спостереження), замальовують плазмолізовані клітини й залишають препарати на 30 - 60 хв, потім знову їх розглядають. У розчині сахарози плазмоліз у клітинах зберігся, а в розчині карбаміду відбувся деплазмоліз. У розчині сахарози спостерігається стійкий плазмоліз, а в розчині карбаміду - тимчасовий. Причиною деплазмолізу в розчині карбаміду є проникність клітинних мембран для його молекул. Тому що проникність для карбаміду менше, ніж для води, то вода із клітини виходить швидше, ніж до неї входить карбамід. Це й викликає плазмоліз, що потім зникає при проникненні в клітину карбаміду й надходженні води.

Завдання: описати роботу, замальовати плазмолізовані й деплазмолізовані клітини й сформулювати висновки.

РОБОТА № 2

Вплив іонів калію й кальцію на форму плазмолізу.

В залежності від ступеня в'язкості протопласта можна спостерігати різні форми плазмолізу (див. рисунок). В ході плазмолізу форма плазмолізованого протопласта змінюється. Спочатку протопласт відстає від клітинної стінки лише в окремих місцях, найчастіше в куточках. Плазмоліз такої форми називають *кутовим*. Потім

протопласт продовжує відставати від клітинних стінок, зберігаючи зв'язок з ними в окремих місцях, поверхня протопласта між цими крапками має ввігнуту форму. На цьому етапі плазмоліз називається *ввігнутим*. Поступово протопласт відривається від клітинних стінок по всій поверхні й приймає округлу форму. Такий плазмоліз зветься *опуклим*. А якщо у протопласта зберігається зв'язок з клітинною стінкою в окремих місцях, то при подальшому зменшенні об'єму в ході плазмолізу протопласт здобуває неправильну форму. Такий плазмоліз називають *судомним*. Час, протягом якого ввігнутий плазмоліз переходить в опуклий, дозволяє оцінювати ступінь в'язкості цитоплазми.

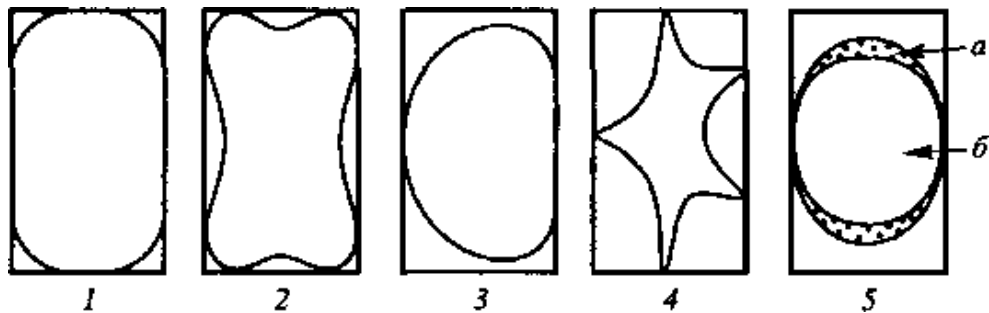


Рисунок - Форми плазмолізу:

1 — кутовий; 2 — увігнутий; 3 — опуклий; 4 — судомний; 5 — ковпачковий {а — цитоплазма; б — вакуоль}

При менш щільній цитоплазмі буде опукла форма плазмолізу, при більш щільній, в'язкій — угнута, при ще щільнішій — спазматична. На форму плазмолізу впливають іони плазмолітика. Наприклад, іони кальцію підвищують в'язкість цитоплазми, збільшують сили зчеплення її з клітинною стінкою, і плазмоліз приймає форму судорожного плазмолізу. Тоді як, іони калію зменшують в'язкість цитоплазми, підвищуючи її гідрофільність, сприяють її швидкому відриву від клітинної стінки. Тому в розчинах солей калію плазмоліз швидко приймає форму опуклого.

У зів'ялих рослин плазмоліз не відбувається, натомість може спостерігатися явище циторизу коли плазмалема не відокремлюється від оболонки і клітина зморщується.

Мета роботи: спостерігати різні форми плазмолізу клітин епідермісу під впливом йонів калію та кальцію.

Матеріали і обладнання. Мікроскоп, предметні стекла, леза, 0,7М розчин нітрату кальцію, 1М розчин нітрату калію, цибуля.

Порядок виконання роботи

На одне предметне скло наносять краплю 1М розчину нітрату калію, на інше - 0,7 М розчину нітрату кальцію. В обидві краплі поміщають по шматочку епідерми цибулі, знятої з увігнутої поверхні однієї й тієї ж луски цибулини, накривають покривними стеклами. Через 5 - 10 хв препарати розглядають під мікроскопом.

Завдання: замалювати форми плазмолізу, описати роботу й зробити висновки.

РОБОТА № 3

Проникність живої і мертвої цитоплазми

Мембрани цитоплазми - плазмолема і тонопласт - мають вибіркову проникність. Це явище властиво тільки живим клітинам. При дії на клітину пошкоджуючих агентів мембрани втрачають властивість напівпроникності. Це добре можна прослідити на рослинних об'єктах, що містять в клітинному соці пігмент антоціан. Ступінь пошкодження корелює з кількістю пігменту, який виділяється у водне середовище.

Частіше за все для демонстрації цього досліду використовують столовий буряк. Його пігмент – б-ціанін - добре розчиняється у воді.

Мета роботи: порівняти проникність мембран живих та мертвих клітин буряка столового.

Матеріали і обладнання: столовий буряк (*Beta vulgaris L.*); штатив з пробірками; пробкове свердло; піпетки; скальпель; електрична плитка; хлороформ; 30% оцтова кислота; 50% етиловий спирт; 1М розчин нітрату калію; мікроскоп; покривні та предметні скельця; пробірки; ФЕК.

Порядок виконання роботи

Вирізають пробковим свердлом циліндри з коренеплоду червоного буряка (діаметр 0,5 см). Нарізають їх на рівні частини завдовжки 2 см і промивають проточною водою. Потім кладуть по одному шматочку коренеплоду в пробірки (варіанти розчинів в пробірках за табл.1), через 1 годину пробірки струшують. Визначають інтенсивність забарвлення розчинів в пробірках за допомогою

фотоелектроколориметра (ФЕК), використовуючи синій світлофільтр. У відповідну графу табл.1 записують показання ФЕКу. Шматочки буряка витягують з пробірок і готують тонкі зрізи, які розглядають під мікроскопом в 1М розчині нітрату калію. Наявність плазмолізу свідчить, що клітина жива. В мертвих клітинах плазмоліз не спостерігається.

Отримані результати занести до відповідної таблиці.

Номер пробірки	1	2	3	4	5
Варіант	10 мл водопровідної води	10 мл водопровідної води кип'ятити	10 мл водопровідної води + 6 крапель хлороформу	10 мл 30% оцтової кислоти	10 мл 50% етилового спирту
Забарвлення розчину в пробірці					
Оптична густина, опт.од.					

Завдання: зробити висновок про зміну проникності цитоплазми при пошкодженні клітин.

РОБОТА № 4

Д і а г н о с т и к а т е р м і ч н о г о
п о ш к о д ж е н н я м е м б р а н к л і т и н
с т о л о в о г о б у р я к а з а з б і л ь ш е н н я м
ї х п р о н и к н о с т і

М е м б р а н и (в і д л а т . m e m b r a n a –
о б о л о н к а) – с и с т е м а д и н а м і ч н и х

спеціалізованих структур, які забезпечують компартаментацію розмежування клітин та окремих органел, створюючи умови для нормального перебігу метаболічних процесів. Мембрани складають $2/3$ сухої ваги клітин і побудовані головним чином з ліпідів та білків. Мембранна система клітини складається із зовнішньої цитоплазматичної мембрани (плазмалеми), а також складного комплексу внутрішньоклітинних мембран (ендоплазматичної сітки, апарату Гольджі, тонопласта) та мембран клітинних органел – мітохондрій, пластид, ядер, лізосом та ін.

При загальному плані будови кожна з цих мембран залежно від функцій, відрізняється за складом і властивостями. Сучасна загальноприйнята модель – рідинно-мозаїчна, що запропонована у 1972 р. С. Сінджером і Дж. Ніколсоном. Згідно з їхньою теорією мембрана – динамічна система, що утворена в'язкою ліпідною фазою, в яку занурені молекули білків. Основні структурні компоненти мембран: фосфоліпіди, білки, вуглеводневі залишки, вода.

Мембрани відіграють важливу роль у життєдіяльності клітин:

беруть участь у формуванні клітин і їх органел, регулюють транспорт речовин та іонів, забезпечують міжклітинні контакти, проходження енергетичних процесів. Завдяки своїм фізико-хімічним та структурним особливостям мембрани регулюють велику кількість метаболічних процесів як на поверхні клітини, так і в її компартментах.

Однією з найбільш загальних неспецифічних та швидких реакцій рослинного організму на вплив різних факторів зовнішнього середовища є зміна проникності мембран клітини. Проникність клітинних мембран змінюється при обробці рослини регуляторами росту, внесенні добрив, проростанні насіння, рості і розвитку рослин, зміні світла, температури.

Цитоплазматичні мембрани (зовнішня - плазмалема і вакуолярна - тонопласт) - напівпроникні, тобто вони добре пропускають воду і вибірково - розчинені речовини. Вибіркова проникність дозволяє живим рослинним клітинам зберігати внутрішньоклітинне середовище. Якщо на рослинну клітину подіяти стресовими чинниками, ці

мембрани пошкоджуються і стають проникними для різних речовин.

Мета роботи: Прослідкувати вплив температури на проникність мембран клітин столового буряка (*Beta vulgaris*) для речовин клітинного соку.

Матеріали і обладнання: столовий буряк, стакани, пробкові свердла діаметром 5 мм, пробірки, термометри, гаряча вода, фарфорові стакани на 200 мл, фотоелектроколориметр (ФЕК).

Порядок виконання роботи

За допомогою свердла відібрати з досліджуваного об'єкту рослинну тканину (6 брусочків довжиною 2 і діаметром 0,5 см). Промити їх у воді (5 хв.) для вимивання беталанінів із пошкоджених клітин на поверхні брусочків. Брусочки помістити у 6 пробірок і налити по 5 мл води в кожну. Приготувати 6 посудин з водою, нагрітою до температури від 20 до 70° ($t^{\circ} = 20^{\circ} \text{C}$ – контроль). В ці посудини занурити на 15–20 хв. пробірки з зразками, періодично збовтуючи їх. Забарвлену воду з пробірок злити в кювети фотоелектроколориметра і виконати вимірювання.

Отримані результати занести до відповідної таблиці.

В а р і а н т	Т е м п е р а т у р а, °С	І н т е н с и в н і с т ь з а б а р в л е н н я
1	20	
2	30	
3	40	
4	50	
5	60	
6	70	

Завдання: Р е з у л ь т а т и д о с л і д ж е н ь записати у таблицю. Побудувати графік залежності інтенсивності забарвлення розчину в пробірках від температури. Зробити висновки.

РОБОТА № 5

Виявлення життєздатності насіння методом фарбування (за Д.Н. Нелюбовим)

Метод фарбування насіння для визначення їх схожості заснований на непроникності живої цитоплазми для деяких фарбників (індигокармін, кислий фуксин), тоді як мертва цитоплазма легко забарвлюється. Бувають випадки, коли зародок мертвий, але насіння не забарвлюється через те, що оточуючі зародок частини насіння не пропускають фарбник. У зв'язку з цим необхідно заздалегідь оголити зародок: у насіння з ендоспермом витягнути зародок або розрізати насінину уподовж, а у насіння без ендосперма видалити насінні покриви.

Підготовлене таким чином насіння витримують в розчині фарбника від 1 до 3 годин (залежно від виду рослини) і оцінюють

життєздатність насіння: насіння з повністю забарвленими зародками або із забарвленими корінцями вважається несхожими, насіння незабарвлене або з частково забарвленими сім'ядолями відносять до числа життєздатних.

Даний метод використовують для швидкої оцінки схожості насіння гороху, квасолі, люпину, льону, коноплі, гарбуза.

Мета роботи: визначити життєздатність насіння гороху шляхом фарбування індигокарміном.

Матеріали і обладнання: насіння гороху, намочене у воді за 10-15 годин; 0,1% розчин індигокарміну (1 г на 1 л дистильованої води); чашки фарфорові (2 шт.); стакан хімічний; стакан фаянсовий з вологою тирсою; тарілка; препарувальна голка; електроплитка; олівець по склу.

Порядок виконання роботи

Відрахувати, не вибираючи, дві порції по 20 штук набряклого насіння гороху. Одну порцію помістити в стакан з водою і прокип'ятити протягом 5 хв. (контроль). Обережно, не ушкоджуючи сім'ядолі, очистити препарувальною голкою насіння обох порцій від шкірки, помістити у фарфорові чашки, залити розчином індигокарміну і витримати 1 годину, після чого злити барвник назад в пляшку, а насіння відмити водою від надлишку барвника.

Відзначити забарвлення насіння, вбитого кип'ятінням. В дослідній порції підрахувати кількість забарвленого, частково забарвленого і незабарвленого насіння. Для перевірки схожості висадити все 10 насіння в стакан з вологою тирсою (перед набиванням стакана віджати з тирси надлишок води) поставити в темну шафу і щодня поливати. Через декілька днів підрахувати кількість пророслого насіння.

Результати записати в таблицю 2:

Отримані результати занести до відповідної таблиці.

№ п/п	Об'єкт	Кількість насіння у досліді, шт.	Кількість насіння, шт.	
			Забарвлених	Незабарвлених

Завдання: визначити кількість життєздатного насіння, заповнити таблицю і написати висновок.

Контрольні запитання до теми «Фізіологія рослинної клітини».

1. Поясніть, чому структурна організація клітини є основою її біохімічної активності та функціонування як цілісної живої системи
2. В чому полягає різниця між рослинною та тваринною клітинами. Що в їхніх функціях відповідає структурним особливостям клітин?
3. Що таке компартментація клітинного метаболізму, його каталітичних систем і метаболітичних фондів?
4. Перелічіть основні структурні компоненти рослинної клітини.
5. Дайте порівняльну характеристику будови хлоропластів і мітохондрій. Яка будова і функція апарату Гольджі, ендоплазматичного ретикулума, вакуолей? В чому їх принципова відмінність від мітохондрій та хлоропластів?

6. Поясніть організацію, властивості та фізіолого-біохімічну роль клітинної стінки.
7. Перелічіть загальні особливості будови та спільні властивості і мембран. У чому різниця між мембранами різних органел? Назвіть одно- та двомембранні органели рослинної клітини.
8. Поясніть функцію мембран у регуляції й інтеграції метаболізму і клітині.
9. Поясніть явища плазмолізу і деплазмолізу.
10. Які існують форми плазмолізу?
11. Чим пояснити той факт, що найчастіше мембрани проникні для певних речовин лише в одному напрямку?
12. Чи може проходити плазмоліз в неживих клітинах?
13. Чи залишається рослинна клітина життєздатною після плазмолізу та деплазмолізу?
14. Які розчини використовують для спостереження явищ плазмолізу та деплазмолізу?
15. Яку роль в рослинних клітинах при плазмолізі відіграють цитоплазматичні мембрани?
16. Які розчини плазмолітиків Ви знаєте?
17. Які фактори можуть впливати на проникність мембран?
18. Як визначити проникність живої та мертвої протоплазми для різних речовин?
19. Як провести визначення життєздатності насіння за забарвленням цитоплазми та наявністю плазмолізу?

Тестові завдання до теми «Фізіологія рослинної клітини»

1. Клітинні мембрани побудовані з:
 - 1) білків та вуглеводів;
 - 2) ліпідів та білків;
 - 3) нуклеїнових кислот та ліпідів.

2. У рості клітинної стінки бере участь:

- 1) апарат Гольджі;
- 2) ендоплазматичний ретикулум;
- 3) мікротрубочки.

3. Які органоїди рослинної клітини належать до напівавтономних?

- 1) мітохондрії, хлоропласти, ядро;
- 2) ядро, рибосоми, апарат Гольджі;
- 3) ЕР, мікротрубочки, мітохондрії.

4. Рибосоми в клітині містяться:

- 1) вільно плавають у цитоплазмі;
- 2) у ядрі;
- 3) значна частина лежить в гранулярній ендоплазматичній сітці, а частина вільно плаває у цитоплазмі.

5. Функції апарату Гольджі полягають у:

- 1) хімічній модифікації речовин клітини;
- 2) упакуванні речовин у пухирці і в виведенні їх у вигляді секретів;
- 3) виведенні синтезованих речовин у зовнішнє середовище, участь у синтезі клітинної стінки.

6. У яких з названих органел рослинної клітини накопичується крохмаль?

- 1) у хлоропластах і ядрі;
- 2) у хлоропластах і лейкопластах;
- 3) у вакуолях і мітохондріях.

7. З чого формуються пластиди?

- 1) з етілопластів;
- 2) пропластид;
- 3) амілопластів.

8. У яких структурних компонентах клітини має місце поглинання енергії квантів світла?

- 1) у рибосомах;
- 2) у хлоропластах;
- 3) у гіалоплазмі.

9. Набір гідролітичних ферментів у клітині міститься:

- 1) у лізосомах;
- 2) у мітохондріях;
- 3) у хлоропластах.

10. Які органоїди в клітині є енергетичними системами і центром дихання?

- 1) ядро;
- 2) мітохондрії;
- 3) хлоропласти.

11. Чому мітохондрії вважають напівавтономними органоїдами клітини?

- 1) вони є енергетичними станціями клітини, в яких здійснюється синтез АТФ;
- 2) вони утворені двома мембранами;
- 3) в них є власна білоксинтезуюча система.

12. Чим відділена цитоплазма рослинної клітини від оточуючого середовища?

- 1) плазмолемою;
- 2) тонопластом;
- 3) клітинною стінкою.

13. Яку функцію виконують рибосоми?

- 1) транспортну;
- 2) синтез білків;
- 3) синтез жирів.

14. Чому мітохондрії називають енергетичними станціями клітини?

- 1) здійснюють синтез АТФ;
- 2) синтез білка;
- 3) розщеплення АТФ.

15. Які функції ядра?

- 1) участь в поділі клітини і фотосинтезі;
- 2) побудова клітинної стінки;
- 3) зберігання і передача спадкової інформації.

16. Клітинна теорія сформульована:

- 1) М. Шлейденем і Т. Шванном;
- 2) Т. Шванном;
- 3) М. Шлейденем;
- 4) Р. Вірхова.

17. Компоненти клітини позначають загальним поняттям:

- 1) цитоплазма;
- 2) протоплазма;
- 3) протопласт;
- 4) поняттям 2 або 3.

18. Плазмоліз спостерігається при зануренні клітини:

- 1) в гіпотонічний розчин;
- 2) в гіпертонічний розчин;
- 3) у воду;
- 4) в ізотонічний розчин.

19. Деплазмоліз спостерігається при зануренні плазмольованої клітини:

- 1) у воду;
- 2) в слабкий розчин;
- 3) в гіпертонічний розчин;
- 4) спонтанно завдяки явищу анатоноза
- 5) через поступове проникнення молекул плазмолітика в клітку.

20. Рослинна клітина відрізняється від тваринної наявністю:

- 1) рибосом і апарату Гольджі;
- 2) мітохондрій і ЕПР;
- 3) ядра, пластид і сферосом;
- 4) пластид, вакуолей з клітинним соком і клітинної стінки.

21. До одномембранних органодів клітини відносяться:

- 1) клітинний центр, апарат Гольджі;
- 2) ендоплазматична мембрана, мітохондрії;
- 3) ЕПР, лізосоми, апарат Гольджі;
- 4) пластиди, апарат Гольджі, рІбосоми.

22. Проникність мембран протоплазми забезпечують іони:

- 1) Ca^{2+} ;
- 2) Na^+ , K^+ , Cl^- ;

- 3) Zn^{2+} ;
- 4) Mg^{2+} ;
- 5) Cu^{2+} .

23. Де в клітині відбувається накопичення антоціанів?

- 1) у вакуолі;
- 2) в мітохондріях;
- 3) в гіалоплазмі;
- 4) в клітинній стінці.

24. Життєздатність насіння можна визначити за:

- 1) здатністю набубнявити;
- 2) наявністю плазмолізу при поміщенні зрізу в розчин сахарози;
- 3) спеціальним забарвленням.

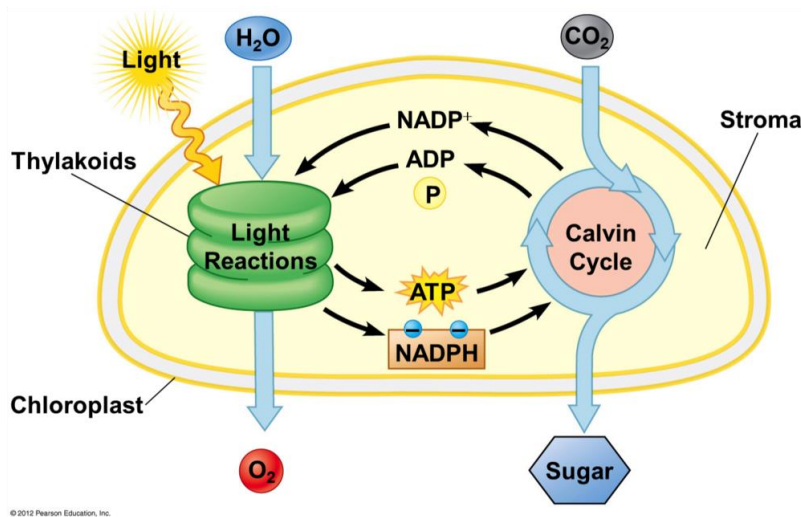
25. У гіпертонічному розчині протопласт:

- 1) зжимається 3) незмінюється
- 2) набухає 4) переходить у гель

26. Що забезпечує високу упорядженість структури клітин і біохімічних реакцій?

- 1) клітинна стінка 3) гуморальна система
- 2) мембранні структури 4) ендоплазматичний ретикулум

ТЕМА
ФІЗІОЛОГІЯ ФОТОСИНТЕЗУ



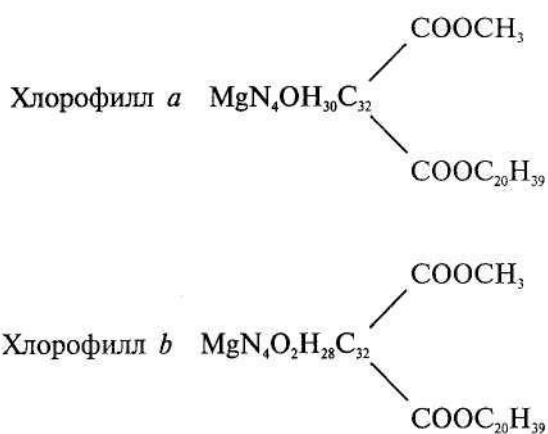
РОБОТА № 1

Одержання спиртового розчину (витяжки) пігментів.

Пігменти фотосинтезу перебувають у мембранах тілакоїдів. У вищих рослин це хлорофіли *a* й *b*, каротин, ксантофіл, феофітин. Хлорофіл *a* — головна функціональна частина пігментної системи рослин. Він здатний, поглинувши квант світла, передавати його енергію на компоненти електронно-транспортного ланцюга. За їх участі відбувається перетворення енергії електронного збудження хлорофілу в хімічну енергію АТФ і НАДФН₂.

Хлорофіли по своїй хімічній природі є складними ефірами дикарбонової кислоти хлорофіліну й двох одноатомних спиртів — високомолекулярного фітолу C₂₀H₃₉ОН і метилового спирту СН₃ОН. Хлорофіл *a* відрізняється від хлорофілу *b* тим, що у третього вуглецевого атома в другому пірольному кільці його молекули метильна група замінена на альдегідну.

Звичайно пігменти з рослинної тканини екстрагують полярними розчинниками (етилловий спирт), які руйнують зв'язок хлорофілів і ксантофілів із протеїдами пластид і тим самим забезпечують їхнє повне екстрагування.



Неполярні розчинники (петролейний ефір, гексан, бензин і ін.) не порушують зв'язку цих пігментів з білками й тому не можуть їх витягти зі свіжих листів.

Із сухого рослинного матеріалу екстракцію ведуть із додаванням води, щоб порушити зв'язок з молекулами білка.

Неполярні розчинники (гексан, петролейний ефір і ін.) не порушують зв'язку цих пігментів з білками й тому не можуть їх екстрагувати зі свіжих листів.

Всі хлорофіли - речовини нестійкі. Екстраговані з листа, вони легко окисляються на повітрі.

Мета роботи: ознайомитися з методами екстракції пігментів і з їхніми хімічними властивостями.

Матеріали і обладнання: Листи кропиви, етиловий спирт, вода. Конічні колби на 200 мл із пробками, Водяна лазня, зворотний холодильник.

Порядок виконання роботи.

Для одержання витяжки пігментів використовують як сирий, так і сухий матеріал. В останньому випадку висушені листи попередньо обробляють гарячою водою, щоб полегшити наступну екстракцію пігментів. Сухі листи кропиви поміщають у конічну колбу на 200 мл і ошпарюють окропом, потім воду зливають.

У колбу доливають 100 мл етилового спирту, закривають її корковою пробкою зі зворотним холодильником і ставлять на лазню з киплячою водою для екстрагування пігментів. Після п'ятихвилинного кип'ятіння вміст колби прохолоджують і розчин обережно зливають декантацією через лійку зі складчастим паперовим фільтром. Відфільтрований розчин використовують у наступних досвідах. Зберігати розчини пігментів треба в темряві в холодильнику.

Завдання. Записати хімічні формули хлорофілів, вказати на можливі розчинники для їх екстрагування.

РОБОТА № 2

Методи розділення суміші фотосинтетичних пігментів

Один з перших методів розділення пігментів був запропонований німецьким вченим Краусом в 1860 р. Він заснований на різній розчинності пігментів в спирті і бензині. Ці розчинники не змішуються при зливанні і утворюють два шари: верхній — бензиновий, де розчинені хлорофіли і каротин, і нижній — спиртовий, де розчинений ксантофіл.

Недоліком методу Крауса є те, що за допомогою нього складно провести кількісний аналіз пігментного складу рослини (не розділяються хлорофіли). Цей метод доцільно використовувати для отримання жовтих пігментів каротину і ксантофілу у великих кількостях.

Для розділення і отримання хлорофілів *a*, *b* і каротиноїдів застосовують інший метод розділення пігментів, розроблений в 1906 р. російським вченим М.С. Цветом. Метод отримав назву *адсорбційного*. Саме він лежить в основі сучасних методів хроматографії.

Суть методу полягає в тому, що різні речовини мають неоднакову здатність адсорбуватися на твердому порошкоподібному адсорбенті. Якщо суміш пігментів листа, розчинену в якому-небудь органічному розчиннику, наприклад бензині, пропустити через сухий адсорбент (цукрова пудра, крохмаль, вуглекислий кальцій, окис цинку, фільтрувальний папір), то відбудеться розділення пігментів. Кожний пігмент має визначену, тільки йому властиву здатність адсорбуватися на даному адсорбенті. В результаті на адсорбційній колонці пігменти розділяться і розподіляться в певному порядку.

До різновиду адсорбційного методу відноситься і метод розділення пігментів за допомогою паперової хроматографії, розроблений в 1951 р. і до теперішнього часу широко застосовується при розділенні сумішей, різних сполук і їх ідентифікації.

Мета: дослідити розподіл фотосинтетичних пігментів за методом Крауса та методом Цвета.

Матеріали і обладнання: штатив з пробірками; 75 % етанол; NaOH або KOH кристалічний; бензин; ступка з пестиком; терези з важками; ділильна воронка; конічна колба з пробкою, в яку вставляють адсорбційну колонку; адсорбційна колонка, скляні бюкси з

притертими кришками; вата; ацетон; прожарений Na_2SO_4 ; дистильована вода; абсолютно суха цукрова пудра або крохмаль; крейда (1 x 10 см).

Порядок виконання роботи

Метод Крауса.

В пробірку з 3-5 мл спиртового розчину пігментів додають таку ж кількість бензину і одну краплю води (для кращого відділення спирту від бензину). Пробірку добре збовтують і дають суміші пігментів відстоятися. Відбувається розшарування рідини: у верхній, бензиновий, шар, переходять обидва хлорофіли і каротин, в нижньому, спиртовому, шарі залишається жовтий пігмент — ксантофіл, оскільки він краще, ніж бензин, розчинний в спирті.

Для відділення каротину від хлорофілу верхній бензиновий шар піпеткою переносять в чисту пробірку. В цій зеленій витяжці каротин непомітний, оскільки його маскує хлорофіл, переважаючий кількісно. В пробірку додають 2 мл етилового спирту і 3-4 краплі води, вносять декілька кристалів лугу і сильно струшують. При взаємодії лугу з хлорофілом відбувається його омилення, утворюється лужна сіль хлорофіліну, яка легко переходить з бензину в спирт. В результаті в пробірці утворюються два шари: верхній, бензиновий, шар - жовтого кольору, що містить каротин і нижній, спиртовий, - зеленого кольору, що містить лужну сіль хлорофіліну.

Метод Цвета

1. Приготування витяжки пігментів з листя рослин.

Наважку свіжого листя (3 г) ретельно розтирають у фарфоровій ступці з невеликою кількістю розчинника, що складається з суміші 10 мл бензину і 10 мл ацетону. Продовжують розтирання до гомогенного стану з одночасною екстракцією пігментів невеликими порціями суміші.

Осад і надосадову рідину переносять на складчастий паперовий фільтр. Ступку змивають невеликою кількістю чистого ацетону і також зливають на паперовий фільтр.

2. Концентрування пігментів в бензині.

Відфільтровану витяжку переливають в пробірку на 50 мл і проводять відмивання ацетону для концентрації пігментів в бензиновій фракції. Обережно, додають 30 мл дистильованої води та декілька разів перевертають пробірку так, щоб не утворилася стійка

емульсія. Після розділення рідини на дві фази: усі пігменти переходять у верхню - бензинову, а ацетон у нижню - водну. Обережно дозатором відбирають верхній бензиновий шар, що містить пігменти. Очищену від домішок сконцентровану витяжку пігментів переливають в бюкс з притертою кришкою і висипають туди 3—5 г прожареного Na_2SO_4 , залишають на 15-20 хв для повного зневоднення екстракту. Це дуже важливо для подальшого розділення пігментів на адсорбційній колонці.

3. Приготування адсорбційної колонки.

Адсорбційна колонка є скляною трубкою діаметром 1-1,5 см і завдовжки 10-15 см, звужена на одному кінці. В звужений кінець трубки вкладають шматочок вати, щоб цукрова пудра не висипалася. Невеликими порціями вводять в колонку, добре висушену цукрову пудру або крохмаль на 2/3 її висоти, злегка постукуючи об твердий предмет. Для успішного розділення пігментів треба мати абсолютно сухі колонки, цукрову пудру (крохмаль, крейду) і прожарений сірчаноокислий натрій і стежити за рівномірним наповненням цукрової пудри у всьому об'ємі трубки.

4. Розділення пігментів.

Бензинову витяжку (1-3 мл) обережно наливають по краю трубки у вільний простір колонки. Через декілька хвилин відбувається розділення і відокремлення пігментів. Зверху колонки залишається зелена зона, що складається з суміші пігментів, потім жовто-зелена зона хлорофілу *b*, потім синьо-зелена зона хлорофілу *a*, нижче розташовується зона темно-жовтого пігменту ксантофілу, а в самому низу колонки яскраво-жовтий каротин, який першим змивається з колонки (див. рисунок). Пігменти по черзі можна змити з колонки бензином і зібрати у випарювальні чашки або колби для подальшого дослідження.

Розділення пігментів зеленого листа можна проводити на шматку крейди у формі стовпчика, заздалегідь добре висушеного в сушильній шафі. Одним кінцем крейду занурюють на 0,5-1,0 см в бензиновий екстракт пігментів (теж осушений Na_2SO_4). Чітке розділення пігментів відбувається на стовпчику крейди протягом 5-10 хв.

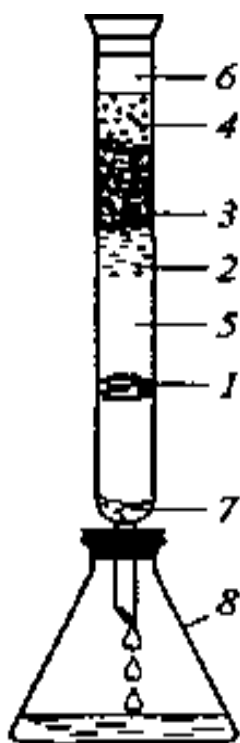


Рисунок - Розділення пігментів на адсорбційній колонці (за М.С. Цветом):

- 1 — каротин;
- 2 — ксантофіл;
- 3 — хлорофіл а;
- 4 — хлорофіл b;
- 5 — скляна колонка з адсорбентом;
- 6 — бензиновий екстракт;
- 7 -- шматочок вати;
- 8 — конічна колба

Завдання: замалювати пробірки з розділеними пігментами за методом Крауса; зробити висновки про розчинність пігментів в різних розчинниках і способах виділення індивідуальних пігментів. Зробити малюнок почергового розділення пігментів на колонці за методом Цвета і підписати зони з різними пігментами.

РОБОТА № 3

С п о с т е р е ж е н н я з а я в и щ е м ф л у о р е с ц е н ц і ї х л о р о ф і л у

Для розчинів хлорофілу в полярних розчинниках властиве явище **флуоресценції** (від лат. fluor – потік та esentia – короткочасне світіння) – властивість під впливом падаючого світла у свою чергу випромінювати промені з більшою довжиною хвилі, ніж ті, якими світіння викликається. Це пояснюється тим, що частина енергії випроміненого світла розсіюється у вигляді теплоти.

Флуоресценція – це ознака фотохімічної активності речовини. Спектри флуоресценції, як і спектри поглинання, є важливими фізичними параметрами, що характеризують хімічну природу і стан зелених пігментів. В етиловому ефірі в хлорофілу *a* спостерігається

рубіново-червона флуоресценція з максимумом 668 нм, у хлорофілу *b* -646 нм. Агрегований хлорофіл і хлорофіл у нативному стані (в живому листку) має слабку флуоресценцію, що вірогідно можна пояснити поглинанням світла флуоресценції самими пігментами.

Мета роботи: ознайомитись з фізичною властивістю хлорофілу – явищем флуоресценції.

Матеріали і обладнання: спиртова витяжка пігментів листка, мікроскопи, елодея, пробірки, джерело світла, чорний папір.

Порядок виконання роботи

Пробірку із спиртовою витяжкою пігментів розглянути проти світла на рівні очей. Розчин буде смарагдово-зеленого кольору. Розташувати ту ж саму пробірку перед темним папером біля електричної лампи і розглянути її у відбитому світлі (з боку, звідки падає світло). Розчин - темно-червоного кольору. Якщо пробірку із спиртовою витяжкою пігментів освітити електричною лампою знизу, а розчин розглядати зверху, то він матиме знову ж таки темно-червоний колір. Для спостереження флуоресценції в живому листку елодеї, її розташовують на предметному столику мікроскопа, освітлюють синьофіолетовим світлом (для цього між освітлювачем і дзеркалом треба поставити синє скло). Зелені хлоропласти починають світитися червоним світлом.

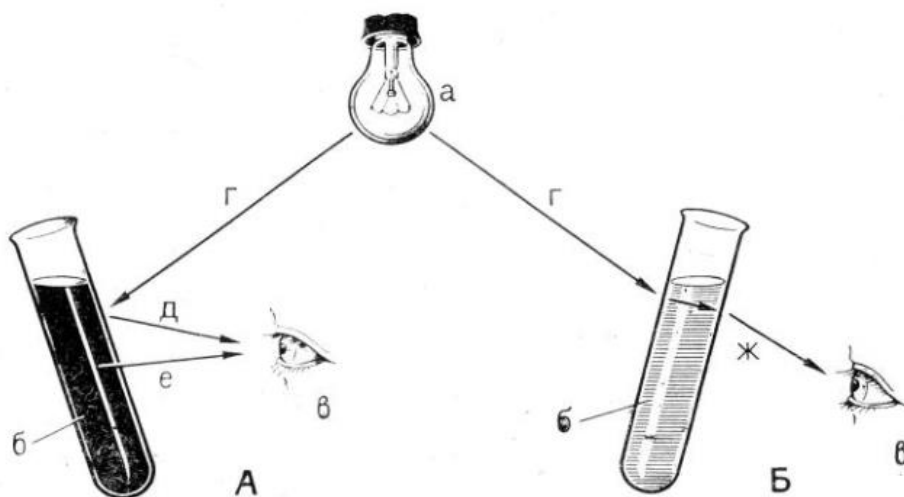


Рисунок - Спиртова витяжка хлорофілу у відбитому (А) і прямому промінні світла (Б):

В – око;

Г - світло лампи, що освітлює пробірку з розчином хлорофілу та збуджує його флуоресценцію;

Ж - світло лампи, що проходить через пробірку з розчином хлорофілу;

Д - світло лампи, відбите від пробірки;

Е - флуоресценція хлорофілу.

Завдання: відзначити забарвлення розчину і зробити висновок про причину флуоресценції хлорофілу.

РОБОТА № 4

Визначення концентрації хлорофілу та каротиноїдів на спектрофотометрі СФ-26

Спектрофотометричний аналіз – найточніший кількісний метод визначення вмісту пігментів листа. Концентрація пігментів на спектрофотометрі визначається за оптичною щільністю. Цей прилад дозволяє виконувати аналіз сумішей речовин з близькими максимумами поглинання, що досягається за рахунок використання монохроматора, внаслідок чого вдається встановити вміст хлорофілів та каротиноїдів у витяжці без попереднього поділу. Оптичну щільність екстракту на спектрофотометрі вимірюють при довжинах хвиль, що

відповідають максимумам поглинання хлорофілів «а» і «b» у червоній області спектру та при довжині хвилі абсорбційного максимуму каротиноїдів. При цьому враховують, що положення максимуму поглинання змінюється в залежності від використовуваного розчинника. Концентрацію пігментів розраховують за відповідними рівняннями:

для 100%-го розчину ацетону (за Реббеленом):

$$\begin{aligned}C_{\text{хл.а}} &= 9,784 \times D_{662} - 0,990 \times D_{644}, \\C_{\text{хл.б}} &= 21,426 \times D_{644} - 4,650 \times D_{662}, \\C_{\text{хл.а+хл.б}} &= 5,134 \times D_{662} + 20,436 \times D_{644}, \\C_{\text{кар}} &= 4,695 \times D_{440,5} - 0,268 \times C_{\text{хл.а+хл.б}};\end{aligned}$$

для 85 %-го розчину ацетону (за Реббеленом):

$$\begin{aligned}C_{\text{хл.а}} &= 10,3 \times D_{663} - 0,918 \times D_{644}, \\C_{\text{хл.б}} &= 19,7 \times D_{644} - 3,87 \times D_{663}, \\C_{\text{хл.а+хл.б}} &= 6,4 \times D_{663} + 18,8 \times D_{644}, \\C_{\text{кар}} &= 4,75 \times D_{452,5} - 0,226 \times C_{\text{хл.а+хл.б}};\end{aligned}$$

для 80 %-го розчину ацетону (за Верноном):

$$\begin{aligned}C_{\text{хл.а}} &= 11,63 \times D_{665} - 2,39 \times D_{649}, \\C_{\text{хл.б}} &= 20,11 \times D_{649} - 5,18 \times D_{665}, \\C_{\text{хл.а+хл.б}} &= 6,45 \times D_{665} + 17,72 \times D_{649};\end{aligned}$$

для 96 %-го розчину етанолу:

$$\begin{aligned}C_{\text{хл.а}} &= 13,70 \times D_{665} - 5,76 \times D_{649}, \\C_{\text{хл.д}} &= 25,80 \times D_{649} - 7,60 \times D_{665}, \\C_{\text{хл.а+хл.д}} &= 6,10 \times D_{665} + 20,04 \times D_{649},\end{aligned}$$

де $C_{\text{хл.}}$, $C_{\text{хл.б}}$, $C_{\text{хл.а+хл.б}}$ та $C_{\text{кар}}$ – відповідно концентрації хлорофілів «а» та «b», їх суми та каротиноїдів, мг/л;

D – експериментально отримані величини оптичної густини при відповідних довжинах хвиль.

Крім того, при роботі на спектрофотометрі потрібно попередньо встановити положення максимумів поглинання для пігментів, так як зазвичай спостерігаються невеликі відхилення (з одним і тим самим розчинником). Наприклад, концентрацію хлорофілу та його кількість в зразку після поділу пігментів визначають також на підставі вимірювання оптичної щільності розчину лише червоний спектр області. Таким чином, завдання зводиться до пошуку «червоного» максимуму поглинання, для чого вимірювання оптичної щільності для хлорофілу «а» зазвичай починають при $\lambda = 658$ нм і продовжують через кожні 2 нм доти, доки у ряді вимірювань не знайдеться максимального значення оптичної щільності. Максимальну оптичну щільність підставляють у формулу розрахунку концентрації хлорофілу, а вибір довжини хвилі визначення максимальної оптичної щільності для хлорофілу «b» коригується за хлорофілом «а». Вона буде на стільки ж одиниць довжини хвилі (в нм) менше або більше, на скільки вона менша або більша, відповідно, для хлорофілу «а». У нормі максимальне значення оптичної густини для хлорофілу «а» припадає на 660 – 662 нм, для хлорофілу «b» – 638 – 646 нм. Великі відхилення цих величин свідчать про несправності приладу. Якщо працюють із нерозділеними пігментами, максимум поглинання перевіряють тільки в межах 660 - 663 нм. Щоб уникнути похибок за рахунок вкладу у значення оптичної густини пігментів поглинання різних домішок і забруднення стінок кювети, цю величину вимірюють також і для $\lambda = 720$ нм, яке віднімають із значень оптичної щільності хлорофілу. Концентрацію хлорофілу «а» та хлорофілу «b» визначають за формулами:

$$C_a = 29,24 \times D_a - D_{720},$$

$$C_b = 42,26 \times D_b - D_{720},$$

де C_a і C_b – концентрації хлорофілу «а» та хлорофілу «b», мкг/мл, відповідно, а D_a , D_b , D_{720} – експериментально отримані величини оптичної густини.

Мета: спектрофотометричним методом визначити кількісний вміст хлорофілів а і b та каротиноїдів в рослинних зразках.

Матеріали та обладнання: Листя кімнатних рослин, 100% ацетон, кварцовий пісок, CaCO_3 , фільтрувальний папір, ножиці, фарфорові ступки з товкачами, колби Бунзена, скляні градуйовані

центрифужні пробірки, вирви зі скляним фільтром 2, скляні палички, штатив для пробірок, вага торсіонна, спектрофотометр СФ-26, набір кювет для спектрофотометра, насос.

Порядок виконання роботи.

Отримайте витяжку пігментів із зеленого листа рослин наважкою 0,03 г та із з астосуванням 80% ацетону (85%, 100% ацетон або 96% спирт). Зберігайте витяжку у темному холодному місці. Спектрофотометричний аналіз пігментів виконуйте при кімнатній температурі на розсіяному світлі, тому що при сильному освітленні може статися фотоокислення хлорофілу.

При визначенні оптичної щільності хлорофілів та каротиноїдів у витяжці перемикач ламп (фотоелемент та джерело випромінювання) (див. рисунок) встановіть у робоче положення: для роботи як джерело світла використовуйте лампу розжарювання.

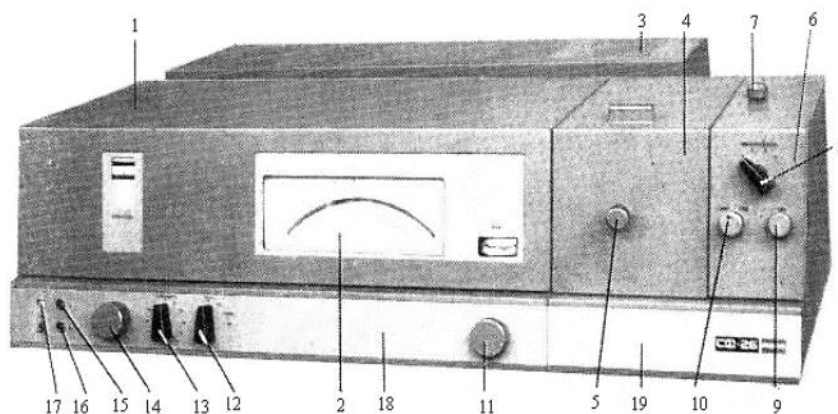


Рисунок - Зовнішній вигляд спектрофотометра СФ-26: 1 - монохроматор; 2 - вимірювальний прилад; 3 - освітлювач з джерелом випромінювання та стабілізатором, 4 - кюветне відділення, 5 - рукоятка переміщення каретки з кюветами, 6 - камера з фотоприймачами та підсилювачами, 7 - рукоятка перемикачів фотоелементів, 8 - рукоятка установки чутливості, 9 - рукоятка установки на «0», 10 - рукоятка шторки, 11 - рукоятка регулювання ширини щілини, 12 – рукоятка «Відлік», 13 – рукоятка компенсації, 14 – рукоятка шкали довжин хвиль, 15 - сигнальна лампа, що показує включення дейтерієвої лампи, 16 - сигнальна лампа, що показує включення лампи розжарювання, 17 - сигнальна лампа «Мережа», 18 - основа, що несе монохроматор, вимірювальний прилад з перетворювачем, шкалою довжин хвиль та механізмом щілини зі шкалою, 19 - основа, що несе кюветне відділення та камеру з фотоприймачами та підсилювачем.

При визначенні оптичної щільності хлорофілів ручку перемикача фотоелемента переведіть у положення «К». Після цього закрийте фотоелемент, поставивши ручку шторки в положення «ЗАКР», а

ручкою регулювання ширини щілини встановіть ширину щілини приблизно 0,1 мм. Потім тумблером увімкніть прилад у мережу. Якщо загоряться сигнальні лампи «СЕТ» та «Н», можна виконувати наступні операції, але прилад повинен прогрітися 30 - 60 хв. Після цього поставте рукоятку компенсації на «0», рукоятку відліку в положення «1» і рукоятку чутливості в положення «1». Повільно обертаючи ручку, встановіть потрібну довжину хвилі. Потім помістіть кювети з розчинником та досліджуваним розчином (10 мм) у кюветоутримувач і закрийте кюветне. відділення. При закритому фотоелементі за допомогою рукоятки встановіть нуль, досягніть нульового положення стрілки вимірювального приладу (за верхньою шкалою), після чого рукояткою відкрийте фотоелемент (при цьому на шляху світлового потоку повинна (стояти кювета з розчинником) і, регулюючи ширину щілини рукояткою, виставте стрілку на «0» нижньої шкали. Потім за допомогою рукоятки переміщення каретки з кюветами кювету з досліджуваним розчином переведіть у робоче положення та виміряйте оптичну щільність за шкалою D. Закрийте фотоелемент та встановіть довжину хвилі для іншого хлорофілу, далі в тій же послідовності визначте оптичну густина. При визначенні оптичної щільності каротиноїдів попередньо переведіть рукоятку перемикачів фотоелементів у положення "Ф" і встановіть довжину хвилі 452,5 нм. Усі отримані в ході дослідження результати запишіть у таблицю.

Таблиця-Визначення оптичної щільності витяжки пігментів при довжині хвилі абсорбційного максимуму каротиноїдів та довжинах хвиль, що відповідають «червоним» максимумам поглинання хлорофілів «a» та «b»

Варіант	Наважка листя, мг	Об'єм витяжки, мл	Оптична густина		
			D _{хл a}	D _{хл b}	D _{кар}

Концентрацію пігментів розрахуйте за відповідними рівнянь (див. вище). Визначивши концентрацію пігменту, знайдіть його вміст у дослідному матеріалі за формулою:

$$X = \frac{100 \times B}{A},$$

де, B - кількість хлорофілу у витяжці, мг;

A - маса сирого листа, взятого для аналізу, мг;

100 – коефіцієнт для вираження у відсотках.

Вміст хлорофілу в листі рослин становить у середньому близько 0,3 % сирої маси (0,1 – 0,7 %), при розрахунку 1 дм² листової поверхні. Кількість хлорофілу варіює в межах 0,7-0,8 мг; каротиноїдів у листі приблизно в 3 - 8 разів менше, ніж хлорофілу.

Завдання: визначити вміст хлорофілів та каротиноїдів за допомогою спектрофотометру, результати занести до таблиці та зробити висновок про вміст пігментів у досліджуваному рослинному зразку.

РОБОТА № 5

Одержання відбитків на листах за допомогою крохмальної проби

Дослід наочно показує, що при фотосинтезі на світлі в листку утворюється органічна речовина у вигляді крохмалю, а також доводить необхідність світла в цьому процесі. Роботу можна проводити в умовах відкритого ґрунту або на кімнатних рослинах.

Мета роботи: показати, що в листках на світлі в процесі фотосинтезу синтезується крохмаль.

Матеріали і обладнання: етанол, розчин йоду в йодиді калію (розчин Люголя), водяна лазня, газовий пальник або електроплитка, колба конічна на 2 л зі зворотним холодильником, біла тарілка, лампа на 100 - 200 W, щільний папір, фольга, канцелярські скріпки, скляна банка, скляні пластинки (2 шт.), нитки, фотонегативи, трафарети з вирізаними фігурами, пінцет, клейка стрічка. Рослини: гортензія, пеларгонія, колеус, герань, примула, соняшник, красоля, тютюн, сахалінська гречка, кульбаба й т.д.

Порядок виконання роботи

При підготовці листків до досліду необхідно помістити рослини в темряву, щоб відбувся відтік вуглеводів із клітин листа або щоб вони були витрачені на процеси метаболізму. Кімнатні рослини переносять у темну шафу на двоє діб (не забуваючи про полив). При використанні

рослин у відкритому ґрунті, на той же термін листки закривають щільним папером по обидва боки.

У жаркий сонячний день папір варто замінити фольгою, що відбиває світло й перешкоджає перегріву листа. До того ж не треба використовувати скріпки. Їх можна замінити стрічкою, що клеїться, тому що вона менше травмує лист.

Через добу папір заміняють трафаретом з вирізаним отвором. Трафарет роблять зі складеного вдвічі листа щільного паперу або фольги з якою-небудь вирізаною фігурою (див. рисунок). Накладаючи його на лист, треба стежити, щоб обриси фігури на верхній і нижній сторонах листа збігалися, потім трафарет обережно прикріплюють.

Замість паперового трафарету на верхню сторону листа можна накласти чіткий фотографічний негатив, тоді з нижньої сторони лист ретельно закривають чорним папером. Під лист підкладають дощечку, негатив кладуть емульсією нагору. Експозиція на світлі може тривати від 2 до 8 годин (залежно від виду рослини й інтенсивності освітлення). Узимку в приміщенні як джерело світла встановлюють лампу 100 - 200W на відстані 60 - 70 см від листа.

По закінченні експозиції на світлі листки зрізують, знімають із них трафарет, занурюють на 2 - 3 хв в окріп, а потім у гарячий спирт для екстракції пігментів. Колбу зі спиртом і листами поміщають у водяну лазню з киплячою водою й витримують у гарячому спирті до повної екстракції пігментів з листів та їх знебарвлення.

У спирті відбувається сильне зневоднювання листка, він стає твердим і легко ламається. Тому спирт зливають, а в колбу наливають воду, лист стає м'яким, потім його переносять у кювету або в білу тарілку з розчином йоду в йодиді калію. Поступово на ділянках листка, що освітлювалися, з'являється темна фігура, що відповідає трафарету.

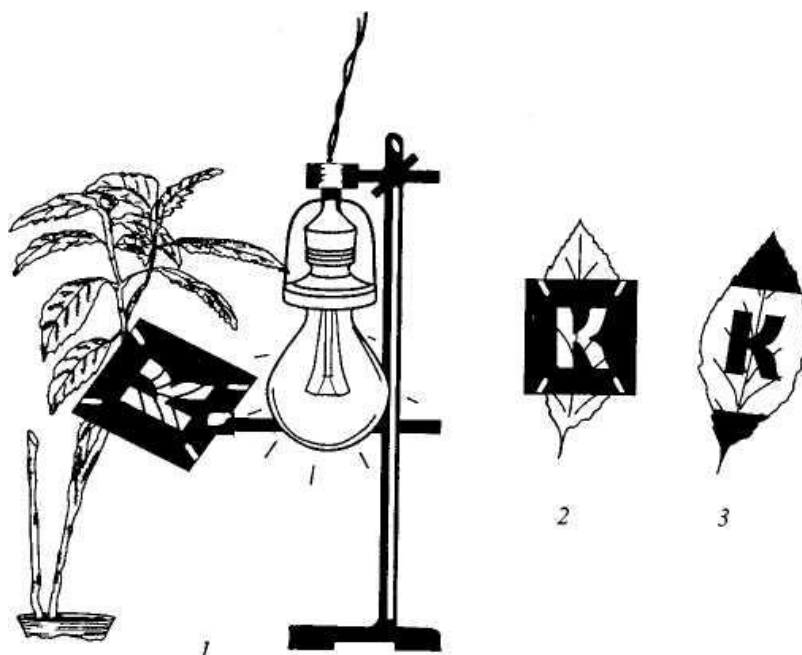


Рисунок - Одержання відбитків на листах за допомогою крохмальної проби:

1 — освітлена рослина; 2 — лист, закритий трафаретом; 3 — відбиток (крохмальна проба) на листі

Якщо на листах отримані гарні відбитки, їх можна зберегти на тривалій строк. Для цього беруть два стекла, які по розмірах більше листа. Одне скло підводять під лист, що лежить у розчині йоду в йодиді калію, і розправляють його. По краях скла із двох сторін укладають по тонкій лучинці. Зверху накривають другим склом, і обидва скла скріплюють між собою. Лист виявляється в камері між двома стеклами. У такому виді його опускають до банки з розчином йоду в йодиді калію, що щільно закривають кришкою. Препарат зберігають у темному місці, тому що на світлі йод і відбиток на листі швидко знебарвлюються. Час від часу розчин йоду замінюють свіжим. Якщо при тривалому зберіганні відбиток знебарвився, викидати його не треба. Новий розчин йоду відновить зображення.

Варто помітити, що в різних рослин процес витрати крохмалю триває 24-120 ч. Так, наприклад, листи квасолі повністю знекрохмалюються лише протягом 96 ч, а в листах примули крохмаль частково залишається й після цього строку. У соняшника знекрохмалювання відбувається за 24 ч, а в герані, сої, тютюну й сахалінської гречки через 72 ч.

Критерієм вибору об'єкта для цієї роботи може бути порівняно короткий строк зникнення крохмалю при затіненні, швидка й легка

екстракція пігментів і міцність листів, що забезпечує їхнє тривале зберігання.

Використання для описаного вище досвіду кімнатної рослини колеус, у якої на листі є крім зелених ділянок білі й пофарбовані антоціаном, буде його вигідно відрізняти.

Лист колеусу закривають смужкою чорного паперу, і рослину поміщають під лампу. Через 48 ч лист зрізують і виконують процедури, описані вище. Затемнена ділянка листа, а також білі ділянки залишаються знебарвленими, а зеленим, освітленим світлом, дають темне фарбування, що свідчить про наявність крохмалю. Дослідний лист із відбитком порівнюють із живим листом на рослині.

Завдання: описати дослід і методику прояву «відбитків», замалювати листи, зробити висновок про те, у якій частині листа відбувся синтез крохмалю.

РОБОТА № 6

Вплив зовнішніх умов на інтенсивність фотосинтезу водної рослини

Для визначення інтенсивності фотосинтезу водних рослин можна використовувати метод підрахунку пухирців кисню. На світлі в листах відбувається процес фотосинтезу, продуктом якого є кисень, що накопичується в міжклітинниках. При зрізанні стебла надлишок газу починає виділятися у вигляді безперервного потоку пухирців, швидкість утворення яких залежить від інтенсивності фотосинтезу. Даний метод не відрізняється великою точністю, проте дуже простий і дає наочне уявлення про тісну залежність процесу фотосинтезу від зовнішніх умов.

Мета роботи: визначити інтенсивність фотосинтезу за дії різної освітленості, світла різного спектру, температури у водної рослини елодеї.

Матеріали і обладнання: Елодея, акваріум або скляна судина, воронка, пробірка, лампа електрична, термометр. Гідрокарбонат натрію, біхромат калію, аміак, сульфат купруму, вода дист.

Порядок виконання роботи

Помістити гілочку елодеї з неушкодженою верхівковою брунькою в кювету з водою й зробити зріз гострим лезом для усунення можливості закупорки шляхів при виході газу. Занурити гілочку зрізом нагору в пробірку з водою, попередньо збагачену вуглекислотою шляхом розчинення невеликої кількості соди (перед зануренням гілочки внести в пробірку на кінчику ножа NaHCO_3 і збовтати). Поміщаючи пробірку з гілочкою елодеї в ті або інші умови, почекати, поки встановиться рівномірний потік пухирців, підрахувати кількість пухирців виділених за певний час. Використовуючи як джерело світла настільну лампу потужністю 100-200 Вт, виконати наступні досліди.

ДОСЛІД 1. Вплив освітленості. Налити воду, нагріту до $30\text{ }^\circ\text{C}$, у колбу або скляний циліндр і вставити в цю судину пробірку з гілочкою елодеї. Підрахувати кількість пухирців кисню при різних відстанях від джерела світла.

ДОСЛІД 2. Вплив спектрального складу світла. Підрахувати кількість пухирців при опроміненні білим світлом (пробірка занурена в судину з водою). Потім провести спостереження при червоному фільтрі, замінюючи воду в зовнішній судині розчином 1% $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, що пропускає червоні, жовтогарячі й жовті промені й не пропускає синьо-фіолетові. Після цього визначити інтенсивність фотосинтезу на синьому екрані, наливаючи в зовнішню судину розчин сірчано-аміачно-мідної солі (4% розчин мідного купоросу, насичений аміаком), що пропускає блакитні, сині й фіолетові промені, але затримуючу довгохвильову частину спектра. Всі три спостереження провести з рідинами однакової температури й на одній відстані від джерела світла.

ДОСЛІД 3. Вплив температури. Налити в зовнішню судину спочатку теплу, а потім холодну воду й підрахувати кількість пухирців при однаковій відстані від джерела світла.

Результати записати в таблицю (відстань від джерела світла й температура зазначені орієнтовно).

Відстань від джерела світла, см	Екран	Температура, $^\circ\text{C}$	Кількість пухирців O_2 за 5 хв.
10	білий	25	
50	білий	25	
100	білий	25	
10	білий	25	
10	червоний	25	

10	синій	25	
10	білий	30	
10	білий	10	

Завдання: заповнити таблицю і зробити висновки про вплив досліджених факторів на інтенсивність фотосинтезу.

РОБОТА № 7

Визначення чистої продуктивності фотосинтезу

Найбільший приріст врожаю в посіві забезпечуються при оптимальному співвідношенні площі листів у період її максимального розвитку й чистої продуктивності фотосинтезу (ЧПФ). ЧПФ - це показник, що позначає число грамів загальної сухої маси врожаю, утворених 1 м² площі листів у середньому протягом дня за проміжок часу в n (звичайно 5-7) днів.

$$\text{ЧПФ} = \frac{B_2 - B_1}{0,5 \cdot (L_1 + L_2) \cdot n},$$

де B_1 і B_2 - суха маса рослин з 1 м² фітоценозу на початку й проміжку, що враховується наприкінці, часу;

L_1 і L_2 - площа листів рослин з тої ж площі фітоценозу на початку й наприкінці того ж проміжку часу;

$0,5 \cdot (L_1 + L_2)$ - середня площа листів за даний проміжок часу;

n - кількість днів.

Варто мати на увазі, що чим більше розрив у часі між пробами, тим менш точні результати визначення. Оптимальний час між пробами становить 7-10 днів, у періоди інтенсивного росту рослин воно може бути скорочене до 5 днів. Інше джерело похибок методу пов'язане із труднощами добору проб рослин, обумовленої великим розмаїттям культур, ценозів і умов зростання.

Неможливо точно врахувати й зміни маси підземних частин, які в деяких рослин служать основним місцем нагромадження пластичних речовин. Крім того, частина фотосинтетично засвоєного Карбону витрачається на подих і екзоосмос. Нарешті, у період фізіологічної зрілості рослин спостерігається стабілізація маси сухої речовини, а з віком відзначається навіть зниження кількості біомаси в результаті

відмирання частини листового апарата й інших органів рослини. Однак швидкість фотосинтезу у функціонуючих листів може не мінятися або змінюватися дуже слабо.

У цьому випадку показник «нетто-асиміляції» вже не буде відображати реальний стан фотосинтетичної активності рослин. Перераховані обставини необхідно враховувати при використанні розглянутого методу. Метод визначення «нетто-асиміляції» ефективний при дослідженні фотосинтезу в природних умовах. Він дозволяє одержувати коштовний матеріал для вишукування найбільш раціональних шляхів підвищення продуктивності культурних і природних ценозів, прогнозування й програмування врожаїв, доцільного географічного розміщення сільськогосподарських рослин.

Показники чистої продуктивності фотосинтезу в природних умовах звичайно коливаються від 0,1 до 20 г і більше сухої речовини на 1 м² площі листів у добу: у злаків у фазі інтенсивного зростання — 40 - 50, в основних сільськогосподарських культур при сприятливих умовах — 4 - 10 г/(м²*доба).

Мета роботи. Визначити та розрахувати чисту продуктивність фотосинтезу насаджень сільськогосподарських культур.

Матеріали і обладнання: Рамка 0,5х0,5 м, лопатка, лінійка, міліметровий папір. Рослини пшениці, ячменю, вівса, кукурудзи. Технічні й аналітичні ваги, термостат, бюкси або металеві стаканчики, ножиці, папір.

Порядок виконання роботи

На дослідних посівах беруть проби рослин. Для зменшення розкиду результатів у пробу включають найбільш типові й однорідні для даного посіву й фази розвитку екземпляри. У злаків, наприклад, беруть не менш п'ятдесятьох паралельних проб, кожна з яких складається з 10-20 рослин. У пробу включають всі опалі й засохлі листи й пагони. Відібрані рослини позначають етикетками, загортають у папір і переносять для аналізу в лабораторію, де швидко розділяють на окремі органи й кожену частину зважують. Пожовтілі або відмерлі листи враховують окремо.

Подальша обробка матеріалу полягає в доборі проб для визначення площі листів і сухої речовини в окремих органах рослин.

Визначення площі листів

Якщо маса листів невелика (50-100 г), площа найчастіше

визначають ваговим методом шляхом зважування контурів. Контур листа можна одержати, наклавши лист на міліметровий папір і обвівши його олівцем. Якщо папір рівний по товщині й по масі, то, знаючи вагу 1 см або 1 дм, можна визначити площу листів, вирізуючи й зважуючи її відбитки. Попередньо потрібно переконатися в тім, що вага декількох квадратиків (5 см x 5 см), що вирізуються з паперу, однакова.

Визначення сухої маси рослин здійснюють шляхом відповідного розрахунку, знаючи сиру масу органів і вміст у них сухих речовин. Для знаходження вмісту сухої речовини з рослинної маси кожної частини (%) беруть дві-три порції матеріалу, поміщають у бюкси (або металеві стаканчики), зважують і висушують у термостаті при 105 °С до постійної маси.

Через 7-10 днів таким же методом знову відбирають рослини й описані визначення повторюють. Чисту продуктивність фотосинтезу розраховують за формулою, запропонованої вище.

Результати спостережень записують до таблиці за наведеною формою.

Таблиця - Визначення чистої продуктивності фотосинтезу

Дата спостереження	Варіант досліду	Повторність	Кількість рослин у пробі	Сира маса, г				Суха маса, г				Площа листя, см ²	ЧПФ, г/(м ² * доба)
				листя	стебел	суцвіть	загальна	листя	стебел	суцвіть	загальна		

Якщо спостереження провести протягом вегетації рослин, можна одержати дані про продуктивність роботи листів в окремі періоди життя досліджуваної культури або залежно від умов її проростання.

Завдання. Розрахувати ЧПФ листкового апарату злакових зернових культур, результати занести до таблиці та зробити висновок про інтенсивність функціонування фотосинтетичного апарату в агроценозі.

РОБОТА № 8

Розрахунок фотосинтетичного потенціалу фітоценозу (посіву)

Якщо прийняти за робочу одиницю поверхні листків 1 м^2 , то протягом дня фітоценоз, що має, наприклад, 10 тис. $\text{м}^2/\text{га}$ виконує фотосинтетичну роботу, що відповідає 10 тис. $\text{м}^2/\text{га}$ дням (це аналогічно тому, як якби ми характеризували обсяг роботи, виконуваний групою робітників у людино-днях). Аналогічно можна охарактеризувати фотосинтетичну роботу одиничної рослини. Для того щоб визначити виробничну здатність не за один день, а за весь вегетаційний період, треба підсумувати показники площі листів за цей час. Такий сумарний показник одержав назву фотосинтетичного потенціалу.

Мета роботи. Визначити та розрахувати фотосинтетичний потенціал сільськогосподарських культур.

Матеріали і обладнання: Лінійка, міліметровий папір. Вегетуючі рослини пшениці, ячменю, вівса, кукурудзи. Технічні й аналітичні ваги, термостат, бюкси або металеві стаканчики, ножиці, папір.

Порядок виконання роботи

Спрощений графічний метод визначення фотосинтетичного потенціалу фітоценозу або окремої рослини полягає в знаходженні площі фігури, обкресленої кривою ходу росту площі листів і осями ординат. Фотосинтетичний потенціал одержують шляхом множення показника площі фігури на показники ціни одного сантиметра масштабу на осі ординат (у цьому випадку 4000 м^2) і в днях осі абсцис (у цьому випадку 5).

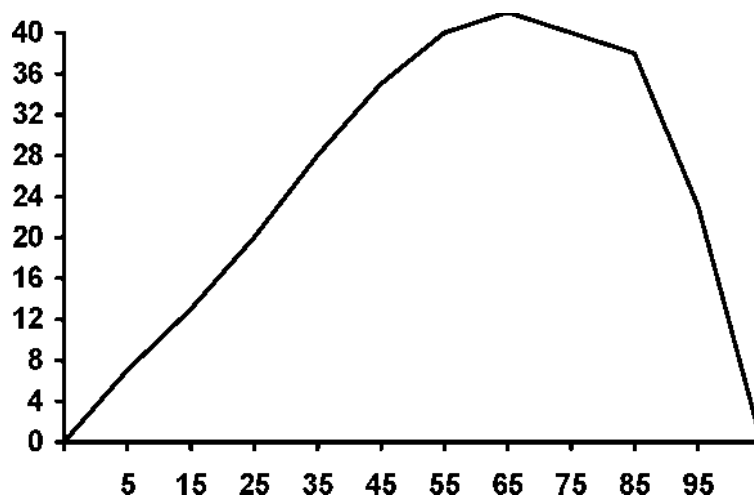


Рисунок - Зміна фотосинтетичного потенціалу фітоценозу.

Отже, продуктивність досліджуваного фітоценозу визначається роботою фотосинтетичного потенціалу 2,3 млн. м² днів. Якщо біологічний урожай такого фітоценозу становить, наприклад, 12 т, то середня за вегетаційний період чиста продуктивність фотосинтезу дорівнює:

$$\text{ЧПФ} = 12000000 \text{ г} / 2300000 \text{ м}^2 \cdot \text{доба} = 5,02 \text{ г/м}^2 \cdot \text{доба}$$

Знайти ЧПФ, якщо сира маса рослин на початку періоду ($n = 5$ днів) - 800 г (стебла - 500 г і листів - 300 г), а наприкінці - 1700 г (стебла - 800 г і листів - 900 г). Вміст сухих речовин у листках 30 %, у стеблах - 20 %.

Площу листків визначити в цьому випадку виходячи з маси одиниці площі листа лабораторної рослини.

Завдання.

1. Визначити фотосинтетичний потенціал однієї рослини буряка за вегетаційний період при наступному ході росту площі листів: площа листів, м : 0,03; 0,07; 0,12; 0,20; 0,25; 0,35; 0,45; 0,55; число днів від появи сходів: 10; 20; 30; 40; 50; 60; 70; 80.

Знайти чисту продуктивність фотосинтезу, якщо вага рослини в момент збирання 1050 г, а зміст сухих речовин 25 %.

2. Визначити фотосинтетичний потенціал фітоценозу кукурудзи за вегетаційний період при наступному ході росту площі листів: площа листів, тис. м : 3; 8; 15; 25; 30; 36; 40; 42; 43; 40; 37; 30; 25; число днів від появи сходів: 10; 20; 30; 40; 50; 60; 70; 80; 90; 100; 110; 120; 130.

Знайти чисту продуктивність фотосинтезу, якщо врожай силосної

маси становить 1100 ц/га (200 ц листів і 900 ц стебел з качанами). Вміст води в листах 70 %, у стеблах з качанами - 60 %.

Контрольні питання до теми «Фізіологія фотосинтезу»

1. Сонячне випромінювання охоплює широку амплітуду довжин хвиль — від ультракороткохвильових до радіохвиль. Який діапазон займає фотосинтетично активна радіація?
2. Поясніть суть і значення фотосинтезу.
3. Напишіть загальне рівняння фотосинтезу.
4. Докажіть, що фотосинтез складається з низки реакцій різної природи (фотофізичних, фотохімічних, ензиматичних).
5. Перелічіть фотосинтетичні пігменти рослин. У чому полягає їхнє значення у фотосинтезі?
6. Чим зумовлена здатність хлорофілу до зворотних окисно-відновних реакцій?
7. Назвіть можливі електронно-збуджені стани хлорофілів і шляхи дезактивації.
8. Що таке флуоресценція?
9. Чому розчин хлорофілів зеленого кольору?
10. Про що свідчить наявність флуоресценції у хлорофілів а і b?
11. Які макро- і мікроелементи необхідні для синтезу хлорофілу і чому?
12. В яких листках синтез хлорофілу відбувається інтенсивніше?
13. Яка середня кількість хлорофілів у сільськогосподарських посівах?
14. Дайте визначення реакційного центру та фотосинтетичної одиниці. Що таке фотосистема?
15. Встановлено, що квантовий вихід фотосинтезу можна збільшити якщо замість неперервного освітлення вмикати світло короткими спалахами з темновими проміжками. Чим це пояснюється?

16. Назвіть компоненти електронно-транспортного ланцюга фотосинтезу й альтернативні шляхи транспортування електронів.
17. Що таке фотосинтетичне фосфорилування?
18. Схарактеризуйте структурну організацію ФС I і ФС II, проміжної ланки зв'язку між ними та АТФ-азного комплексу.
19. Назвіть основні продукти світлової стадії фотосинтезу.
20. Що таке темнова стадія фотосинтезу?
21. У рослинах присутні два важливих ферменти — рибулозобіфосфат-карбоксилаза та фосфоенолпіруват-карбоксилаза. Опиши і реакції, в яких бере участь кожний із цих ферментів, та схарактеризуйте їхній функціональний взаємозв'язок.
22. Який зв'язок існує між світловою і темною стадіями фотосинтезу?
23. Схарактеризуйте основні етапи циклу Кальвіна.
24. Що таке C₄-тип фотосинтезу?
25. Чому рослини C₄-типу фотосинтезу характеризуються більш високою продуктивністю та посухостійкістю?
26. Схарактеризуйте особливості фотосинтезу сукулентів (САМ-метаболізм).
27. Як впливають зовнішні фактори (температура, світло, концентрація CO₂ тощо) на інтенсивність фотосинтезу?
28. Від яких параметрів фотосинтетичного процесу залежить продуктивність сільськогосподарських рослин?
29. Скільки органічної речовини синтезує рослина за 15 хв, якщо відомо, що інтенсивність фотосинтезу складала 20 мг/дм²·год, а поверхня листя дорівнює 2,5 м²?
30. За 20 хв побіг, листову поверхню якого дорівнює 240 см², поглинув 16 мг CO₂. Визначити інтенсивність фотосинтезу.

Тестові завдання до теми «Фізіологія фотосинтезу»

1. Які фактори, виходячи із загального рівняння реакції фотосинтезу, повинні впливати на швидкість цього процесу:
 - 1) мінеральне живлення і температура;
 - 2) водопостачання, концентрація CO₂ та інтенсивність світла;

3) спектральний склад світла, концентрація O_2 .

2. Які промені спектру поглинаються хлорофілом?

- 1) зелені і жовті;
- 2) оранжеві і фіолеові;
- 3) червоні і сині.

3. Молекула хлорофілу до дії на неї квантів світла знаходиться в основному синглетному стані. Які ознаки характеризують його?

- 1) наявність на орбіталях парних електронів;
- 2) електрони розміщені на збуджених енергетичних рівнях;
- 3) спіни 2-х електронів, які знаходяться на одній орбіталі, мають однаковий знак.

4. Які речовини утворюються в результаті взаємодії хлорофілу з лугом?

- 1) феофітин і вода;
- 2) хлорофілінова кислота і метанол;
- 3) лужна сіль хлорофілінової кислоти, фітол, метанол.

5. Як використовується енергія електронів, які рухаються по системі переносників фотосистем?

- 1) іде на флуоресценцію;
- 2) розсіюється у вигляді тепла;
- 3) запасується клітиною у формі хімічної енергії.

6. Вкажіть, які з перчислених ознак характерні для нециклічного фотофосфорильовання:

- 1) електрон збудженої молекули хлорофілу повертається до неї;
- 2) виділяється O_2 внаслідок фотолізу води;
- 3) не синтезується НАДФ* H_2 .

7. Яке походження O_2 , який є одним з продуктів фотосинтезу?

- 1) виділяється при розкладі води;
- 2) виділяється при розкладі CO_2 ;
- 3) утворюється при синтезі АТФ.

8. Які речовини утворюються в процесі фотосинтезу?

- 1) CO_2 і H_2O ;
- 2) глюкоза, АТФ і O_2 ;

3) білки, РНК, ДНК.

9. Які з перелічених ознак характерні для темнових реакцій фотосинтезу?

- 1) для їх здійснення потрібна повна відсутність світла та наявність H_2O ;
- 2) протікають швидше світлових і супроводжуються виділенням O_2 ;
- 3) для їх протікання світло не обов'язкове, потрібен CO_2 .

10. Вкажіть, які ознаки характерні для C4-шляху фотосинтезу (цикл Хетча-Слека-Карпілова):

- 1) карбоксилювання відбувається один раз в циклі;
- 2) продуктом карбоксилювання є чотиривуглецева сполука;
- 3) в результаті карбоксилювання утворюється тривуглецева сполука.

11. Інтенсивність фотосинтезу дорівнює $12 \text{ мг/дм}^2 \cdot \text{год}$. Скільки органічної речовини (в 1 м^2) синтезує за 20 хв. Рослина, листкова поверхня якої становить $1,5 \text{ м}^2$?

- 1) 200;
- 2) 600;
- 3) 1200.

12. У світлолюбної рослини відношення хлорофілу- α до хлорофілу- β становить 3,85. Яка величина цього показника у тіневитривалої рослини?

- 1) більша;
- 2) менша;
- 3) така ж.

13. Рослини мають компенсаційну точку при наступних значеннях інтенсивності світла (в лк). Яка з цих рослин є найбільш світлолюбною?

- 1) 100;
- 2) 50;
- 3) 200.

14. Хлорофіли „a” і „b” присутні:

- 1) лише у вищих рослин;
- 2) лише у водоростей;
- 3) і у вищих, і у нижчих рослин.

15. Які метали необхідні для нормального функціонування фотосинтетичного апарату?

- 1) залізо;
- 2) мідь;
- 3) магній;
- 4) кобальт.

16. Які ферменти беруть участь у циклі Кальвіна?

- 1) α -амілаза;
- 2) пероксидаза;
- 3) РДФ-карбоксилаза;
- 4) цитохромоксидаза.

17. В листках пшениці фотосинтез відбувається в клітинах:

- 1) провідних пучків;
- 2) губчастої паренхіми;
- 3) стовпчастої паренхіми;
- 4) замикаючих клітинах продихів;
- 5) епідермісу.

18. Фотосинтез в рослинній клітині відбувається в:

- 1) вакуолях;
- 2) хромопластах;
- 3) лейкопластах;
- 4) ядрі;
- 5) хлоропластах.

19. В темновій фазі фотосинтезу відбувається утворення:

- 1) ферментів;
- 2) АТФ;
- 3) НАДФ*H₂;
- 4) органічних речовин.

20. У C₃-груп рослин первинним акцептором CO₂ є:

- 1) фосфогліцеринова кислота;
- 2) рібулозо-1,5-дифосфат;
- 3) еритроза-4-фосфат;
- 4) фруктозо-6-фосфат;
- 5) фосфогліцириновий альдегід.

21. Сума щоденних показників листової площі посіви за весь вегетаційний період, чи певну його частину називають :

- 1) індексом листової поверхні
- 2) чистою продуктивністю фотосинтезу
- 3) фотосинтетичним потенціалом
- 4) інтенсивністю фотосинтезу

22. Максимуми поглинання хлорофілу а відповідають довжині хвилі?

- 1) 420 і 662 нм
- 2) 455 і 644 нм
- 3) 455 і 700 нм
- 4) 420 і 680 нм

23. Майже для всіх рослин найсприятливішим температурним діапазоном для протікання фотосинтезу є:

- 1) 0-10 °С
- 2) 10-35 °С
- 3) 35-55 °С
- 4) 55-75 °С

24. Кількість вуглекислого газу, що засвоюється одиницею листової поверхні за одиницю часу називають :

- 1) індексом листової поверхні
- 2) чистою продуктивністю фотосинтезу
- 3) фотосинтетичним потенціалом
- 4) інтенсивністю фотосинтезу

25. Приріст сухої маси рослин в грамах за одиницю часу віднесений до одиниці листової поверхні ($\text{г/м}^2 \cdot \text{доба}$) називають :

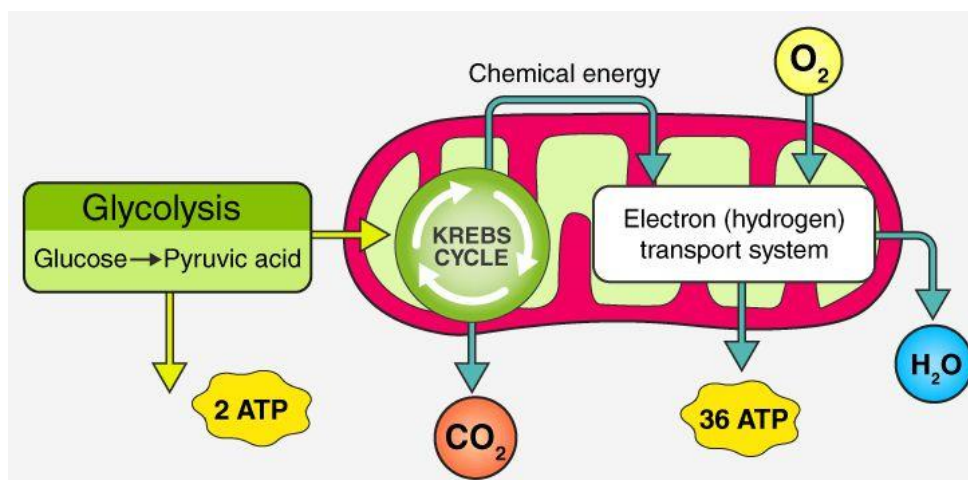
- 1) індексом листової поверхні
- 2) чистою продуктивністю фотосинтезу
- 3) фотосинтетичним потенціалом
- 4) інтенсивністю фотосинтезу

ЗАДАЧИ

1. Скільки органічної речовини виробить рослина за 15 хв, якщо відомо, що інтенсивність фотосинтезу становить $20 \text{ мг CO}_2/\text{дм}^2 \cdot \text{год}$, а поверхня листя дорівнює $2,5 \text{ м}^2$?

2. За 20 хв паросток, листова поверхня якого дорівнює 240 см^2 , поглинув 16 мг CO_2 . Визначте інтенсивність фотосинтезу.
3. При обліку фотосинтезу методом просмокування були отримані такі дані: площа листа $3,13 \text{ дм}^2$, тривалість експозиції 20 хв, кількість бариту в поглиначі 200 мл, взято у колбу для титрування 50 мл. Пішло на титрування: контроль (без рослини) – 36 мл соляної кислоти, дослід – 49 мл. Концентрація кислоти така, що 1 мл еквівалентний $0,3 \text{ мг CO}_2$. Обчисліть інтенсивність фотосинтезу.
4. Вимірювання фотосинтезу методом листових пластинок проводилося з 8 до 12 год. Зважування висушених проб листа дало наступні результати: а) освітлене листа: 8 год – $0,2203 \text{ г}$, 12 год – $0,2603 \text{ г}$; б) затемнене листа: 8 год – $0,2350 \text{ г}$, 12 год – $0,2050 \text{ г}$. Площа всіх проб була однаковою та становила 100 см^2 . Обчисліть інтенсивність фотосинтезу.
5. Для обліку фотосинтезу паростку з площею листа 80 см^2 він був витриманий в колбі 15 хв, після чого пагін було видалено, а в колбу налито 20 мл розчину Ba(OH)_2 . Після ретельного збовтування провели титрування, на яке пішло 18 мл соляної кислоти. На титрування такої ж кількості бариту в контрольній колбі (без рослини) пішло 14 мл кислоти. Визначте інтенсивність фотосинтезу, якщо відомо, що 1 мл кислоти еквівалентний $0,6 \text{ мг CO}_2$.

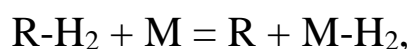
ТЕМА:
КЛІТИННЕ ДИХАННЯ



РОБОТА № 1

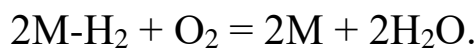
Визначення дегідрогеназ у рослинах

Основними ферментами, що каталізують процеси перенесення протонів та електронів від донора до акцептора, є дегідрогенази (ферменти з класу оксидоредуктаз). В даний час відомо більше 150 видів дегідрогеназу, що поділяються на аеробні дегідрогенази (працюють у присутності кисню) та анаеробні. Для демонстрації механізму роботи дегідрогеназ у процесі дихання можна використовувати модельний лабораторний експеримент, в якому як донора протонів служать органічні речовини у складі рослинного матеріалу, а акцептором – метиленова синь, яка при відновленні переходить у безбарвну лейкоформу:



де $R-H_2$ – відновлена форма субстрату; M - метиленова синь; R – окислений субстрат; $M-H_2$ – лейкоформа метиленової сині.

В аеробних умовах при дотику відновленої лейкоформи метиленового барвника з киснем відбувається її мимовільне окиснення до вихідної форми та синьовіолетове фарбування барвника відновлюється:



У цій реакції дегідрогенази не беруть участь.

Мета роботи: визначити інтенсивність дихання пророслого насіння шляхом обліку кількості вуглекислоти, що виділяється. Виявити залежність інтенсивності дихання від температури.

Матеріали і обладнання: насіння гороху, що проростає, бульбі картоплі; розчин метиленової сині; дистильована вода; порцелянові чашки; пробірки; спиртівка; водяна баня.

Порядок виконання роботи

Очистити від шкірки 10 насіння гороху, що покільчилося, розділити їх на сім'ядолі і помістити в порцелянову чашку. Вирізати з бульби картоплі 10 однакових шматочків та помістити в другу порцелянову чашку. До першої пробірки помістити 5 шматочків бульби картоплі, у другу – 10 сім'ядолей гороху. В обидві пробірки налити води та в протягом 3 хв прокип'ятити над полум'ям спиртівки для дезактивації дегідрогеназ (цю операцію можна провести в колбах на електроплитці). Потім воду з пробірок злити та остудити матеріал до кімнатної температури.

У третю і четверту пробірки помістити рослинний матеріал, що залишився. У всі чотири пробірки налити розчин метиленової сині та залишити на 10 хв. Потім розчин барвника акуратно злити з пробірок в колбу. Ретельно промити матеріал у пробірках під краном. Промитий рослинний матеріал залити до країв пробірок дистильованою водою і закрити пробками (щоб уникнути контакту з киснем повітря). Потім поставити пробірки на водяну баню при температурі 25–30 °С та слідкувати за зміною забарвлення (знебарвлення пофарбованого матеріалу) протягом 15-20 хв. Акуратно злити з пробірок усю воду і висипати рослинний матеріал у порцелянові чашки. Спостерігати за відновленням синього забарвлення під дією кисню повітря.

Результати заносимо у таблицю.

варіант	Забарвлення матеріалу		
	Після експозиції в барвнику	Після експозиції у водяній бані	Після експозиції на повітрі

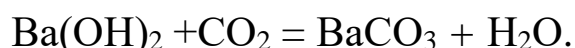
Картопля (кіп'ятіння)			
Горох (кіп'ятіння)			
Картопля (без кіп'ятіння)			
Горох (без кіп'ятіння)			

Завдання: результати спостережень занести до таблиці, проаналізувати отримані результати та пояснити зміну забарвлення рослинного матеріалу.

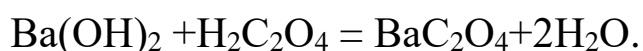
РОБОТА № 2

Визначення інтенсивності дихання насіння у закритій судині

Метод полягає в обліку кількості CO_2 , що виділяється насінням при диханні. Процес поглинання диоксида вуглецю баритом можна записати у вигляді наступного рівняння:



Надлишок бариту, який не прореагував із CO_2 , відтитрують щавлевою кислотою:



Мета роботи: визначити інтенсивність дихання пророслого насіння шляхом обліку кількості вуглекислоти, що виділяється. Виявити залежність інтенсивності дихання від температури.

Матеріали і обладнання: насіння пшениці, що проростає, 0,1 н. розчин бариту, 0,1 н. розчин щавлевої кислоти, 1% розчин фенолфталеїну. Терези з важками, конічні колби на 250 мл із пробками та трубкою з натронним вапном, марлеві мішечки.

Порядок виконання роботи

У марлевий мішечок поміщають 4 г пророслого насіння пшениці. У дві конічні колби за допомогою бюретки наливають по 10 мл 0,1 н.

$\text{Ba}(\text{OH})_2$ і закривають колби пробками. Варто пам'ятати, що барит отрутний. Його не можна залишати відкритим, тому що він легко поглинає CO_2 з повітря. В одну колбу, відкривши її, швидко підвішують на гачок пробки мішечок з насінням (див. малюнок), іншу колбу залишають як контроль. Витримують обидві колби 1 год при кімнатній температурі (20°C).

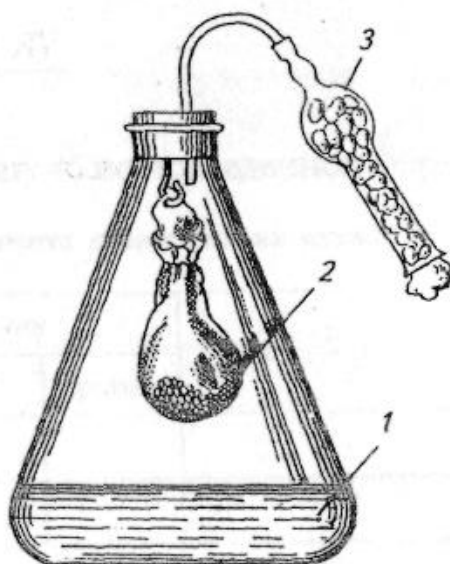


Рисунок - Колба для визначення інтенсивності дихання насіння:

- 1-розчин бариту;
- 2-марлевий мішечок;
- 3-поглинач із натроного вапна

Під час досліду періодично обережно помішують колби, щоб зруйнувати плівку BaCO_3 , що утворюється на поверхні бариту й перешкоджає повноті поглинання вуглекислоти. Потім виймають із колби мішечок з насінням, додають три краплі фенолфталеїну й відтитровують барит 0,1 н. щавлевою кислотою до слаборожевого забарвлення, що зникає від однієї краплі кислоти. Так само відтитровують барит у контрольній колбі. При титруванні колбу закривають пробкою, через яку проходить кінчик піпетки, приєднаний до пляшки з баритом.

Інтенсивність дихання, $\text{mg CO}_2/(\text{г-год})$ розраховують по формулі

$$I = \frac{(a - b) \cdot K \cdot 2.2}{n}$$

де a та b - кількість 0,1н щавлевої кислоти, витраченої на титрування бариту відповідно в контрольному та дослідному варіантах, моль; K - виправлення до титру 0,1н розчину щавлевої кислоти; 2,2 - кількість CO_2 мг, що відповідає 1 молу 0,1н розчину щавлевої кислоти; n - маса сухого насіння, г.

Паралельно визначають дихання насіння при температурі повітря 30С. Результати досліду записують до таблиці за наведеною формою.

Таблиця - Визначення інтенсивності дихання насіння

Температура повітря, С	Наважка насіння, г	Вологість насіння, %	Маса сухого насіння, г	Об'єм бариту, мл	Кількість щавлевої кислоти, витраченої на титрування, мл		Інтенсивність дихання, мг CO ₂ на 1м сухого насіння за 1 год.
					контроль	дослід	

Завдання. Записати ход досліду та реакції, що відбуваються, розрахувати інтенсивність дихання пророслого насіння та прослідкувати як вона змінюється при збільшенні температури.

РОБОТА № 3

Визначення дихального коефіцієнта проростаючого насіння.

Дихальним коефіцієнтом (ДК) називається відношення обсягу виділеного при диханні діоксиду вуглецю до обсягу поглиненого кисню. Величина його залежить, перш за все, від того, які речовини застосовуються при диханні. При окисленні цукрів відношення CO₂:O₂ (ДК) дорівнює 1. Якщо дихальним матеріалом є речовини більш окислені, ніж вуглеводи (наприклад, щавлева кислота), то величина дихального коефіцієнта буде більшою за 1. Якщо використовуються сполуки менш окислені, ніж вуглеводи (жири, білки), дихальний коефіцієнт буде менше 1.

Для визначення дихального коефіцієнта досліджуваний матеріал поміщають у пробірку, з'єднану з градуйованою трубкою, яку введено краплю пофарбованої рідини. Якщо об'єми газів, що обмінюються при диханні, рівні, то крапля в трубці пересуватися не буде. Якщо ж величина дихального коефіцієнта менше або більше одиниці, то спостерігатиметься переміщення рідини в трубці, що відповідає різниці між об'єми поглиненого O₂ і виділеного CO₂. Потім з тим же матеріалом проводять другий дослід, вводячи до пробірки концентрований розчин луку для поглинання CO₂, що виділяється при

диханні. Пересування краплі в трубці, що спостерігається при цьому, відповідає об'єму поглиненого матеріалом кисню.

Мета роботи: визначити дихальний коефіцієнт насіння, що проростає.

Матеріали і обладнання: насіння пшениці м'якої (*Triticum aestivum* L.), гороху посівного (*Pisum sativum* L.) та ін.; 20% розчин КОН; вода, підфарбована метиленовою синьою; порцелянова чашка; пінцет; таймер; піпетка з відтягнутим кінцем; смужки фільтрувального паперу розміром 2×6 см. Установка для визначення дихального коефіцієнта: у пробірку з добре пригнаною гумовою пробкою вставлена вигнута під прямим кутом тонка скляна трубка. Горизонтальне коліно трубки градуують, прикріплюючи до неї за допомогою гумових кілець смужку міліметрового паперу, пробірку встановлюють у високу (за довжиною пробірки) склянку з ватою.

Порядок виконання роботи

Насипати в пробірку насіння пшениці чи гороху до половини пробірки (див. рисунок). Зібрати установку для спостереження за газообміном, поставити її в склянку з ватою та ввести в трубку краплю підфарбованої води. Коли крапля відірветься від краю трубки, відзначити положення внутрішнього меніска краплі, перевернути пісочний годинник і після 5 хв експозиції зробити другий відлік, а ще через 5 хв – третій.

Обчислити середню відстань, пройдену краплею за 5 хвилин (А), яке відповідає різниці між обсягами поглиненого кисню та виділеного діоксиду вуглецю.

Вийняти пробку з пробірки з насінням, провітрити пробірку та вкласти пінцетом у верхню частину пробірки згорнуту в кільце смужку фільтрувального паперу або вату, змочену 20%-м розчином луги (смужку змочують помірно, тримаючи її над фарфоровою чашкою, щоб під час досвіду луг зі смужки не потрапив на насіння). Закрити пробірку пробкою і знову ввести в трубку підфарбовану краплю рідини.

Відзначити положення меніска краплі, визначити пересування краплі за три п'ятихвилинні інтервали та обчислити середню величину (В).

Дихальний коефіцієнт розраховують за формулою:

$$ДК = \frac{(CO_2)}{(O_2)} = \frac{(B - A)}{B}$$

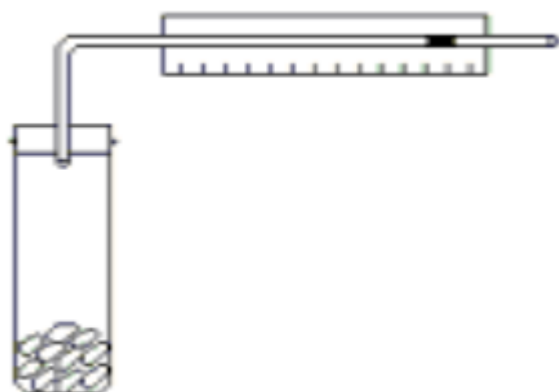


Рисунок - Установка для визначення дихального коефіцієнта

Результати записують в таблицю.

Таблиця - Дихальний коефіцієнт прослого насіння

Об'єкт	Положення меніску						Відстань, що пройшла крапля за 5 хв, мм						CO ₂ /O ₂				
	Без луку			З лугом			Без луку (А)			З лугом (В)							
	1	2	3	1	2	3	1	2	Ср.	1	2	Ср.					

Завдання: отримані експериментальні результати записати до таблиці, обрахувати ДК та зробити висновок про залежність величини дихального коефіцієнта від характеру окислювачів.

Контрольні питання до теми «Клітинне дихання»

1. Доведіть, що дихання – це окисно-відновний процес. У чому полягає функція дихання?
2. Чому аеробне дихання ефективніше порівняно з анаеробним?
3. Охарактеризуйте каталітичні системи клітинного дихання.
4. Дайте визначення дихального коефіцієнта.
5. Схарактеризуйте процес гліколізу. Яка його функція в конструктивному обміні клітини? На яких етапах гліколізу й за рахунок енергії яких реакцій синтезується АТФ? Що є кінцевим

- продуктом гліколізу?
6. Чому дихання являє собою не пряме окиснення глюкози, а є процесом, який складається з багатьох етапів?
 7. Схарактеризуйте основні стадії циклу Кребса.
 8. Схарактеризуйте електронно-транспортний ланцюг мітохондрій зокрема структурну організацію, основні компоненти, їх окисно-відновні потенціали.
 9. Що є джерелом енергії для функціонування дихального ланцюга. Чому для функціонування електронно-транспортного ланцюга необхідний кисень?
 10. Що таке окиснювальне фосфорилування? Назвіть спільні та відмінні риси фотосинтетичного та окиснювального фотофосфорилування.
 11. В якій формі енергія, що виділяється в процесі дихання, може бути використана рослинним організмом?
 12. Яка кількість АТФ утворюється в разі розпаду однієї молекули глюкози в анаеробну та аеробну фази дихання?
 13. Назвіть основні риси пентозофосфатного шляху дихання.
 14. Схарактеризуйте гліоксилатний цикл.
 15. У чому полягає фізіологічне значення альтернативних шляхів дихання?
 16. Які фактори впливають на інтенсивність процесу дихання?
 17. Назвіть подібні та відмінні риси процесів фотосинтезу й дихання.
 18. Поясніть, чому дихання є центральним механізмом, який поєднує між собою різні групи важливих органічних сполук, а саме обмін вуглеводів, органічних кислот, жирів і білків.
 19. З якого проміжного продукту дихання утворюються жирні кислоти?
 20. На чому базується метод П. Бойсен-Йенсена визначення інтенсивності дихання?
 21. Які фактори впливають на інтенсивність дихання рослинного організму?
 22. В яких тканинах інтенсивність дихання вища меристематичних або запасуючих?
 23. Якими методами можна виміряти інтенсивність дихання рослин?
 24. Чому для кращого зберігання овочів у сховищах підтримують низькі позитивні температури і високу концентрацію CO₂.

Тестові завдання до теми «Клітинне дихання»

1. В ході дихання рослин відбувається:

- 1) асиміляція органічних сполук
- 2) дисиміляція органічних сполук
- 3) поглинання вуглекислого газу
- 4) витрачання енергії АТФ

2. Кінцевим продуктом гліколізу є:

- 1) 3-ФГК
- 2) етанол
- 3) CO_2
- 4) піруват

3. Сумарний вихід АТФ при повному окисненні глюкози становить:

- 1) 8 молекул
- 2) 15 молекул
- 3) 38 молекул
- 4) 40 молекул

4. В ході гліколізу:

- 1) витрачається 2 АТФ та виділяється 2 АТФ та 2 $\text{НАД}^*\text{H}_2$
- 2) витрачається 1 АТФ та виділяється 4 АТФ та 1 $\text{НАД}^*\text{H}_2$
- 3) АТФ не витрачається, а виділяється 10 АТФ
- 4) витрачається 2 $\text{НАД}^*\text{H}_2$ та виділяється 8 АТФ

5. Дихання - це:

- 1) процес поглинання CO_2 , із якого за участі води на світлі утворюється органічна речовина
- 2) світлове дихання, яке відбувається в рослинних клітинах в разі дії світла, внаслідок чого поглинається O_2 і виділяється CO_2
- 3) спряжений з фотоіндукованим перенесенням електронів і протонів у тилакоїдній мембрані синтез АТФ
- 4) окислювальний розпад органічних сполук, що супроводжується поглинанням O_2 , запасанням енергії та виділенням CO_2 .

6. Який з наведених типів окисно-відновних реакцій каталізують дегідрогенази:

- 1) $\text{Fe}^{2+} \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{e}^-$
- 2) $\text{AH}_2 + \text{B} \rightarrow \text{A} + \text{BH}_2$
- 3) $\text{A} + \text{O}_2 \rightarrow \text{AO}_2$

7. Дихальний коефіцієнт зростає при:

- 1) зменшенні концентрації кисню до 1%

- 2) зменшенні вологості
- 3) зростанні температури
- 4) зростанні освітлення

8. Дихальний коефіцієнт більше за 1 якщо субстратом дихання є:

- 1) ліпіди
- 2) білки
- 3) вуглеводи

9. Зі зростанням вмісту води в зерні інтенсивність дихання:

- 1) зменшується
- 2) зростає
- 3) не змінюється

10. Інтенсивність дихання зростає при:

- 1) проростанні насіння
- 2) старінні рослин
- 3) зменшенні водозабезпеченості
- 4) зниженні температури

11. При зберіганні плодів в атмосфері з високим вмістом вуглекислоти дихання:

- 1) зменшується
- 2) зростає
- 3) не змінюється

12. Дихальний коефіцієнт визначають як відношення:

- 1) $\frac{[O_2]}{[CO_2]}$
- 2) $\frac{[CO_2]}{[O_2]}$
- 3) $\frac{[H_2O]}{[O_2]}$
- 4) $\frac{[CO_2]}{[H_2O]}$

13. Процес дихання рослин відбувається

- 1) у спеціальних органах
- 2) у всіх живих клітинах
- 3) тільки в клітинах з хлоропластами
- 4) тільки в молодих клітинах

14. Затоплення ранньою весною полів пшениці талими водами іноді призводить до загибелі сходів, тому що при цьому порушується процес:

- 1) фотосинтезу через нестачу кисню
- 2) дихання через нестачу кисню

- 3) поглинання води з ґрунту
- 4) випаровування води

15. Щоб забезпечити доступ кисню повітря до коріння рослин, ґрунт треба

- 1) удобрювати солями калію
- 2) рихлити до поливу і під час поливу
- 3) удобрювати азотними солями
- 4) рихлити після поливу

16. Величина дихального коефіцієнту рослинної клітини свідчить про:

- 1) ефективність дихання
- 2) інтенсивності дихання
- 3) природі основного субстрату дихання (типі дихального обміну)
- 4) шляху окислення глюкози

17. Підморожена картопля набуває солодкуватий смак після розморожування в результаті активації:

- 1) гідролізу
- 2) гліколізу
- 3) циклу Кребса
- 4) бродіння
- 5) глюконеогенезу

ЗАДАЧІ

1. У дві колби налито однакову кількість розчину $\text{Ba}(\text{OH})_2$. Колби щільно закриті пробками із гачками, до яких підвішені марлеві мішечки з однаковими наважками пророслого і непророслого насіння. Після закінчення однакового часу розчин у колбах протитрували хлоридною кислотою. На титрування якої колби піде більша кількість кислоти? Поясніть.

2. Інтенсивність дихання листя визначалася методом просмоктування. Наважка листя становила 22 г, експозиція 40 хв, кількість розчину $\text{Ba}(\text{OH})_2$ в поглиначі 100 мл, взято на титрування 20 мл розчину, пішло

на титрування 16 мл соляної кислоти. На титрування 20 мл вихідного розчину бариту пішло 18мл HCl. Обчислити за наведеними даними інтенсивність дихання, якщо відомо, що 1 мл HCl еквівалентний 2,2 мг CO₂.

3. 15 г бруньок виділили за 30 хв 3 мг CO₂. Визначити інтенсивність дихання на 1 г сухої ваги за годину, якщо відомо, що вміст води у бруньках становить 60% до сирої ваги.

4. Скільки CO₂ виділить 1 кг насіння за 10 діб, якщо відомо, що інтенсивність дихання цього насіння дорівнює 0,1 мг CO₂ на 1 г сухої маси на годину, а вміст води у насінні 37,5 %?

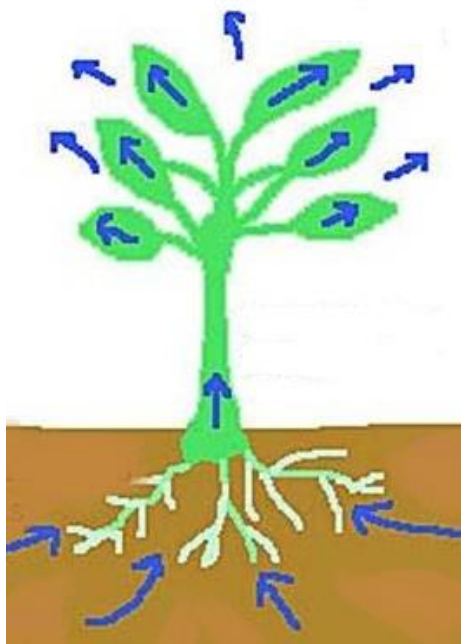
5. Дехто вважає, що шкідливо залишати в кімнаті на ніч квіти, тому що вони поглинають кисень, необхідний для дихання людини. Щоб відповісти на питання, наскільки обґрунтовано цю думку, підрахуйте, до якої величини знизиться вміст O₂ проти звичайного (21% за об'ємом) у повітрі кімнати об'ємом 45 м³ протягом 10 год за рахунок дихання рослин, що мають загальну вагу 2 кг та середню інтенсивність дихання 12 мг O₂ на 1 г на добу.

6. Було взято 2 наважки насіння по 10 г кожна. Одну наважку висушили при 100 °С для визначення абсолютно сухої маси, яка виявилася рівною 8,8 г. Другу порцію насіння пророщували протягом двох тижнів у темряві на чистому піску, змоченому дистильованою водою. Отримані проростки мали сирю масу 21,7 г, а абсолютно суха маса 7,6 г. Як пояснити зміни сирої та абсолютно сухої маси, що мали місце у процесі проростання?

7. У 2 судини апарату Варбурга помістили однакові наважки насіння. У стаканчик, впаяний у середню частину однієї з судин, налили концентрований розчин КОН, після чого обидві судини з'єднали із манометрами. Як змінюватиметься рівень манометричної рідини, якщо: а) дихальний коефіцієнт насіння дорівнює одиниці; б) дихальний коефіцієнт дорівнює 0,7?

8. Зелений лист на світлі при температурі 25°C інтенсивно поглинав CO₂, а при підвищенні температури до 40°C почав виділяти вуглекислоту. Як пояснити зазначену зміну газообміну листа? Чому інтенсивність дихання бульб картоплі різко підвищується за зниження температури від 3 до -1 °С?

ТЕМА:
ВОДНИЙ ОБМІН РОСЛИН



РОБОТА № 1

Визначення вмісту води та сухої речовини у рослинному матеріалі.

Мета роботи: визначити кількісно вміст води та сухої речовини в рослинах методом гравіметрії.

Матеріали і обладнання. П'ятнадцятиденні проростки соняшника або кукурудзи. Аналітичні ваги, сушильна шафа, бюкси, ексікатор, щипці.

Порядок виконання роботи.

Кількість води й сухої речовини в листах визначають ваговим методом. Дослід ставлять у двох варіантах, для чого використовують листи верхнього й нижнього ярусів. Беруть тільки нормально розвинені, зелені, що не мають явних слідів ушкодження й підсихання листи. Кожне визначення виконують у трикратній повторності при наважці сирих листів не менш 5 г. Варто точно встановити, які по рахунку листи відносити до нижнього, а які до верхнього ярусів, і дотримуватися встановленого порядку на всіх дослідних рослинах.

Спочатку визначають масу абсолютно сухого бюкса. Для цього чисто вимитий бюкс із кришкою, поставленою вертикально, поміщають на полицю сушильної шафи при температурі 100 - 150°C. Через 1 год. бюкс беруть тигельними щипцями й ставлять відкритим

до ексикатору на 30 хв. для охолодження, потім закривають кришкою й зважують на аналітичних вагах. Повторно бюкс ставлять у сушильну шафу на 20-30 хв, прохолоджують в ексикаторі й знову зважують. Якщо маса бюкса не зміниться, то в нього можна поміщати пробу.

Бюкс із рослинним матеріалом зважують на аналітичних вагах, ставлять на 5 год. у шафу, нагріту до 105°C. Потім прохолоджують в ексикаторі (бюкс повинен бути відкритий) і знову зважують. Однак 5 годин для видалення всієї вологи з рослини буває недостатньо, тому бюкси після зважування відкривають і поміщають у сушильну шафу при тій же температурі. Потім охолоджені в ексикаторі бюкси знову зважують. Так повторюють доти, поки маса бюкса з матеріалом не буде постійної або наступна маса не стане трохи більше попередньої.

При роботі необхідно дотримувати наступні правила. Сирий матеріал повинен лежати в бюксі нещільно. Не можна тримати його в шафі без перерви довше 5 год.. Бюкс із наважкою потрібно ставити в шафу, нагріту до 105 °С. Температура в різних частинах шафи непостійна, тому бюкси бажано поміщати на одному рівні з кулькою термометра. Не слід розташовувати бюкси близько до стінок шафи, тому що тут температура може бути більш високою, чим показує термометр. Брати бюкси треба щипцями, на кінці яких надіти каучукові кільця, тому що через дотик пальцями до бюкса може змінитися маса.

Віднімаючи з маси вихідного рослинного матеріалу масу висушеного матеріалу, одержують масу води в узятій наважці.

Результати досліду записують у таблицю за наведеною формою.

Культура	Ярус листів	Повторність	Номер бюксу	Маса бюкса, м			Сира маса, м	Суха маса, м	Вміст води		
				порожного	с сирим матеріалом	с сухим матеріалом			г	% сирої маси	% сухої маси

Завдання. Розрахувати вміст води у відсотках сирої й сухої маси матеріалу, зробити висновок про залежності вмісту води в листах від розташування їх на рослині.

РОБОТА № 2

Визначення осмотичного тиску клітинного соку методом плазмолізу.

Вода рослинними клітинами поглинається за законами осмосу. Переміщення молекул води із зовнішнього середовища в клітину, а також від клітини до клітини відбувається по градієнту рівня вільної енергії молекул води, що визначається *хімічним потенціалом* (μ_w). Крапкою відліку рівня вільної енергії молекул води береться її рівень у молекул чистої води в стандартних умовах (μ_w^0). Хімічний потенціал води у водяних розчинах і клітинах менше, ніж у чистої води. Ця різниця, називана *водним потенціалом* (ψ), показує здатність води в даній системі здійснювати роботу в порівнянні з роботою, що за тих самих умов робила б чиста вода. Водний потенціал розраховується по рівнянню:

$$\psi = \frac{\mu_w - \mu_w^0}{V_w},$$

де V_w — парціальний мольний обсяг води.

Водний потенціал визначає здатність молекул води дифундувати, випаровуватися або поглинатися. Він має розмірність енергії, поділеної на об'єм, що збігається з розмірністю тиску (атмосфери, бари).

Молекули розчинених у воді речовин знижують рівень вільної енергії молекул води. Це зниження вимірюється осмотичним потенціалом ($\psi_{осм}$). *Осмотичний потенціал* — компонент водного потенціалу розчину, що визначається присутністю розчинених речовин, що знижують хімічний потенціал води.

Тому $\psi_{осм}$ завжди величина негативна. Якщо два розчини з різними концентраціями розділити напівпроникною мембраною, що пропускає тільки молекули води, але не пропускає молекули розчинених у ній речовин, то молекули води будуть переміщатися по градієнту ψ — з розчину з меншою концентрацією, у якому $\psi_{осм}$ вище (тобто менш негативна величина), у розчин з більшою концентрацією, у якому $\psi_{осм}$ нижче (тобто більше негативна величина).

У молекул води, що перебувають під тиском, рівень вільної енергії підвищується. Тому величина водного потенціалу розчину або клітини

збільшується при підвищенні в них гідростатичного (тургорного) тиску. Водний потенціал, залежний від гідростатичного тиску (величина завжди позитивна), називається *потенціалом тиску* ($\psi_{\text{давл}}$).

Загальний водний потенціал клітини ($\psi_{\text{кл}}$) залежить від осмотичного потенціалу ($\psi_{\text{осм}}$) і потенціалу тиску ($\psi_{\text{давл}}$):

$$\psi_{\text{кл}} = \psi_{\text{осм}} + \psi_{\text{давл}}$$

При вміщенні клітини до чистої води остання буде входити в клітину доти, поки $\psi_{\text{осм}}$ у клітині не буде врівноважено $\psi_{\text{давл}}$, що збільшується. Збільшення $\psi_{\text{давл}}$ відбувається через опір клітинної стінки зростанню обсягу протопласту при надходженні до нього води.

Якщо клітину помістити у водяний розчин, $\psi_{\text{осм}}$ якого буде більш негативним, чим $\psi_{\text{кл}}$, то вода буде виходити із клітини в цей зовнішній розчин. При цьому $\psi_{\text{кл}}$ буде зменшуватися через зменшення в клітині як $\psi_{\text{осм}}$, так і $\psi_{\text{давл}}$. Вихід води із клітини буде відбуватися доти, поки ψ у клітини й у зовнішнього розчину не зрівняються.

Мета роботи. Визначити самостійно та розрахувати осмотичний тиск клітинного соку луку.

Матеріали і обладнання. Цибуля синя, 1н. розчин хлориду натрію, мікроскопи, препарувальні ігли, піпетки (10мл), фільтровальний папір, скляні палички.

Порядок виконання роботи.

З вихідного 1н розчину хлориду натрію зробити 5 робочих розчинів по 10 мл кожного у наступних концентраціях - 0,5н, 0,4н, 0,3н, 0,2н, 0,1н. Для отримання робочих розчинів скористатися таблицею.

Концентрація розчинів	Кількість мл на 10 мл робочого розчину	
	води	1н р-ну NaCl
0,5	5	5
0,4	6	4
0,3	7	3
0,2	8	2
0,1	9	1

Пробірки поставити у штатив в порядку зменшення концентрацій. До кожної пробірки внести шматочок забарвленого епідермісу луку. Пробірки зачинити пробками для запобігання випаровування води.

Через 30 хвилин зрізи витягнути скляною паличкою та покласти на предметне скло у краплю того ж розчину покрити покривним склом

та розглянути під мікроскопом. Визначити ізотонічну концентрацію, яка знаходиться між концентрацією, що викликає плазмоліз і концентрацією, що вже не викликає плазмоліз.

Результати занести до таблиці.

Концентрація розчинів	Ступінь плазмолізу*	Малюнок плазмолізу
0,5		
0,4		
0,3		
0,2		
0,1		

* - записувати словами „сильний”, „середній”, „слабкий”, „дуже сильний”, „дуже слабкий”.

Розрахувати осмотичний тиск клітинного соку за формулою.

$$\Psi_{\text{осм}} = -RTCi,$$

де R — газова постійна $0,0821$ (л*атм)/(град*моль); T — абсолютна температура, градуси; C — концентрація в молях; i — ізотонічний коефіцієнт, що характеризує ступінь гідролітичної дисоціації розчиненої речовини і для неелектролітів рівний 1. Для перекладу величини водного потенціалу, розрахованого в атмосферах, у кілопаскалі отриманий результат потрібно помножити на 101,3.

Завдання: визначити величину осмотического тиску в клітинах епідерми луски цибулини плазмолітичним методом. Зробити висновок та вказати величину осмотичного тиску клітинного соку цибулі.

РОБОТА № 3

Визначення водного потенціалу рослинних тканин методом Уршпрунга.

Цей метод заснований на підборі зовнішнього розчину відомої концентрації, водний потенціал (ψ_p) якого виявиться рівним величині водного потенціалу клітин тканин ($\psi_{\text{тк}}$). При зануренні смужок досліджуваної тканини в розчин, ψ_p якого менше $\psi_{\text{тк}}$, довжина смужок тканини зменшується. Якщо $\psi_{\text{тк}}$ менше ψ_p розчину, то клітини поглинають воду з розчину, об'єм їх збільшується й довжина смужок тканини теж збільшується. Довжина смужок тканини залишається без зміни в тім розчині, у якого ψ_p дорівнює $\psi_{\text{тк}}$.

Мета роботи: познайомитися з методом визначення водного потенціалу тканини по Уршпрунгу.

Матеріали і обладнання: 1М розчин хлориду натрію, дистильована вода, бюретки, штативи для бюреток, пробірки, ніж для вирізання смужок тканини, лінійки або міліметровий папір. Рослини: бульби картоплі, коренеплоди ріпи, моркви.

Порядок виконання роботи

У сімох пробірках готують по 10 мл розчинів хлориду натрію по-мірі зменшення концентрації: 1,0; 0,8; 0,6; 0,5; 0,4; 0,3; 0,2М, у восьму наливають дистильовану воду. Для приготування розчинів користуються бюретками. Вихідний 1М розчин NaCl розводять дистильованою водою.

З органа рослини нарізають пластини товщиною 5 – 10 мм і ділять на однакові бруски шириною близько 5 мм і довжиною 40 – 70 мм, промокають їх фільтрувальним папером. Довжину кожного бруска точно вимірюють за допомогою лінійки перед його зануренням у розчин і після витримування в розчині протягом 30 хв.

Результати вимірів записують до таблиці.

Таблиця - Вплив концентрації розчину на довжину брусочків бульби картоплі

Концентрація розчинів, М	Початкова довжина брусочків, мм	Довжина брусочків після	Зміна довжини брусочків, мм

		перебування в розчині, мм	
1,0			
0,8			
0,6			
0,5			
0,4			
0,3			
0,2			
Контроль (вода)			

Констатують, як змінилася довжина брусочка в кожному розчині. Виявляють той розчин, у якому довжина брусочка не змінилася; ψ_p цього розчину виявився рівним $\psi_{тк}$. Водний потенціал (ψ_p) зовнішнього розчину є його осмотичний потенціал ($\psi_{осн}$). Величину останнього розраховують, використовуючи рівняння Вант-Гоффа.

Завдання: Звернути увагу на пружність тканин картоплі, що знаходилися у воді та у розчині солі та зміну розмірів, записати висновки та пояснити зміну розмірів зразків. Визначити величину водного потенціалу тканин бульби картоплі методом Уршпрунга.

РОБОТА № 4

Дослідження явища тургору.

Надходження води в рослинну клітину, поміщену в чисту воду, обмежено клітинною стінкою, розтягання якої не нескінченно. У клітині підвищується гідростатичний (тургорний) тиск. Це збільшує вільну енергію молекул води до рівня вільної енергії молекул чистої води, і водний потенціал клітини ($\psi_{кл}$) стає рівним нулю. Це повністю насичені водою клітини. Якщо клітини помістити не у воду, а в розчин якого-небудь осмотика (поварена сіль, сахароза й ін.), то вода виходить із клітин і вони втрачають тургор. Порівняння клітин тургоресцентних і втративших тургор зручно провести в досліді з коренеплодом моркви.

Мета роботи. продемонструвати явище тургору на прикладі надходження й виходу води в клітинах коренеплоду моркви.

Матеріали і обладнання: склянки, насичений розчин хлориду натрію, вода, ніж. Рослини: коренеплод моркви.

Порядок виконання роботи

Із середини коренеплоду моркви вирізують, починаючи з кінчика кореня, поздовжню смугу тканини шириною 8 - 12 мм і видаляють її. Дві частини кореня залишаються з'єднаними приблизно 1/5 всієї його довжини (див. малюнок). Обидві частини коренеплоду поміщають у дві склянки, що знаходяться поруч, в одному - насичений розчин хлориду натрію, в іншому - вода.

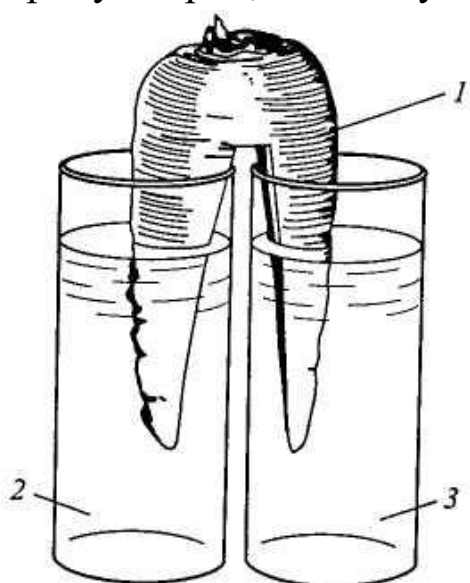


Рисунок - Поглинання й вихід води з клітин коренеплоду моркви:

1 — коренеплод моркви;

2 — склянка з водою;

3 — склянка з розчином повареної солі.

Через 1,5 - 2 год. корінь витягають зі склянок, порівнюють розмір і тургор тканин у його половинах і роблять висновок про те, в якій зі склянок відбувся вихід води з тканин кореня, що привів до втрати ними тургору.

Завдання: зробити малюнок коренеплоду моркви й сформулювати висновок про стан обох його частин.

РОБОТА № 5

Визначення інтенсивності транспірації зрізаних листів за допомогою торзійних терезів по Л. І. Іванову

Метод заснований на обліку змін маси зрізаного транспіруючого листа за короткі проміжки часу, що дає можливість спостерігати транспірацію при тій стані насичення листа водою, у якому він перебував на рослині. Для швидкого зважування використовують *торзійні ваги*

Мета роботи: визначити інтенсивність транспірації зрізаних листків ваговим методом.

Матеріали і обладнання: Десятиденні проростки вівса або пшениці. Торзійні ваги, фени, ножиці, підставки для підвішування листів.

Порядок виконання роботи.

Торзійні ваги встановлюють строго горизонтально за рівнем 1 за допомогою двох гвинтів 2 на підставці. Перевіряють нульову крапку: установлюють покажчик маси 6 важелем натягу 5 у положення «0», звільняють коромисло ваг пересуванням закріпного важеля 4 вправо, при цьому покажчик рівноваги 9 повинен сполучитися з рисою рівноваги 3. Закривають ваги пересуванням закріпного важеля 4 вліво.

Потім приступають до зважування. На гачок коромисла 7, що перебуває збоку ваг у закритій камері 8, підвішують інший гачок і визначають його масу. Для цього звільняють коромисло ваг пересуванням закріпного важеля 4 вправо. Повертають покажчик маси 6 важелем натягу 5 уліво до сполучення покажчика рівноваги 9 з рисою рівноваги 3. У такому положенні покажчик маси показує на шкалі масу наважки. Повертають закріпний важіль уліво (стрілка показує «закрите») і повертають покажчик маси до нульового поділу на шкалі (рис.).

Потім визначають інтенсивність транспірації. Для цього зрізають лист, надягають на гачок і підвішують на коромисло ваг. Лист швидко зважують і поміщають на наколку. У такий спосіб зважують листи того самого ярусу з десяти рослин. Через 5 хв після зважування першого листа повторно зважують всі листи у початковому порядку.

Масу листів визначають вирахуванням з показань шкали маси гачка. Зменшення у масі листів за час між першим і другим зважуваннями показує, скільки води випарувалося за цей період. Всі розрахунки виконують по сумарній масі десяти листів кожного варіанта.

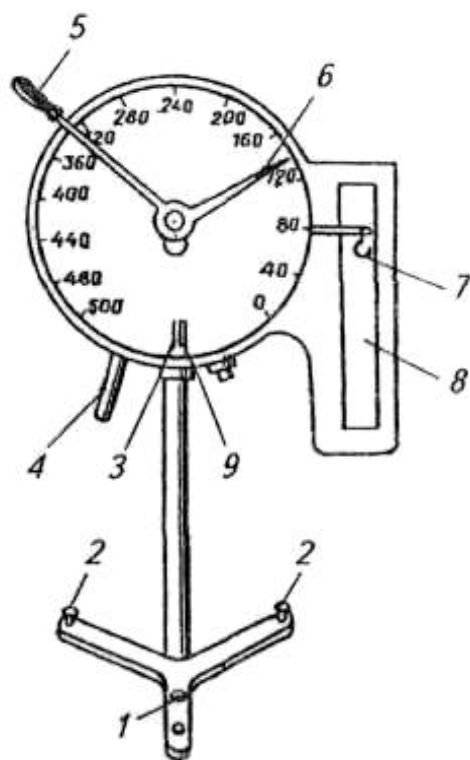


Рисунок - Торзійонні ваги:

- 1 — рівень; 2— гвинти;
 3— риса рівноваги;
 4— закріпний важіль;
 5 — важіль натягу;
 6- покажчик маси;
 7-- гачок коромисла;
 8— закрита камера;
 9- покажчик рівноваги

Розраховують кількість води, що випарувалася з 1 мг сирих листів за 1 год. Визначають інтенсивність транспірації в кімнатних умовах (контроль) і при сухому теплому вітрі (з використанням фену). Результати досліду записують у таблицю за наведеною формою.

Таблиця - Визначення інтенсивності транспірації зрізаних листів

Варіант досвіду	Маса листів, мг	Повторність					Сумарна маса 10 листів, мг	Втрата води 10 листами, мг	Інтенсивність транспірації, г/(м ² ч)
		1	2	3	4	5			

Завдання. Розрахувати інтенсивність транспірації за кількістю транспірованої листями води при різній температурі повітря.

РОБОТА № 6

Вивчення стану продохів методом відбитків по Полаччі.

Метод заснований на одержанні тонкої прозорої плівки з відбитками (репліками) продихів. Розглядаючи їх під мікроскопом, можна визначити число продихів на одиниці поверхні листа та їх розмір. Для виготовлення реплік застосовують речовини, що утворюють плівку при випарі розчинника або в результаті полімеризації. Дія самих органічних розчинників і охолодження листа в результаті їх випару можуть впливати на апертуру продихів. Використання полімерів знижує артефакти.

Мета роботи. Виявити стан продихів листа соняшника в різні часи доби та розрахувати площу продихів до загальної площі листа.

Матеріали і обладнання. П'ятнадцятиденні рослини соняшника, розчин коллодію або кремнійорганічний каучук і каталізатор, який використовують стоматологи, безбарвний лак для нігтів для виготовлення плівки. Мікроскопи, окуляр-мікрометр, об'єкт-мікрометр, предметні й покривні стекла, пінцети, пензлики.

Порядок виконання роботи.

На нижню поверхню листа скляною паличкою наносять тонкий шар розчину силіконового каучуку, змішаного з каталізатором, і залишають на 2-3 хв. для полімеризації. «Негатив» знімають із листа пінцетом, покриваючи безбарвним лаком і дають висохнути. Таким способом на лаковій плівці, що легко знімається зі зліпка, одержують позитивне зображення листа. Плівку поміщають у краплю води на предметне скло, накривають покривним і розглядають під мікроскопом об'єктивом х40. Визначають середнє число продихів у полі зору мікроскопа, дослідивши кілька полів зору в різних ділянках препарату.

Потім за допомогою окуляра-мікрометра знаходять середню площу продихової щілини та площу поля зору мікроскопа. Для цього вимірюють ширину й довжину продихової щілини не менш чим в 20 продихів і встановлюють середню величину. Площу продихової щілини обчислюють по формулі:

$$S = \pi ab,$$

де a й b — мала й більша півосі еліпсу, тобто половина ширини й довжин продихової щілини.

За числом продихів і середньої площі продихової щілини розраховують загальну площу продихових отворів у полі зору мікроскопа. Вимірюють діаметр поля зору, обчислюють радіус і визначають площу поля по формулі $S = \pi r^2$. Розраховують площу, що

займають всі продихові отвори, у відсотках від загальної поверхні листа.

Методом відбитків досліджують листи різних ярусів тієї самої рослини. Результати дослідження записують у таблицю.

Таблиця – Визначення стану продихів у соняшника

Ярус листя	Кількість продихів у полі зору мікроскопу	Ціна поділу окуляру-мікрометру, мкм	Розміри продихових отворів					Заг. площу продихових отворів, мкм ²	площа поля зору, мкм ²	Площа продихових отворів, % до загальної площі поверхні листа
			у поділах окуляру-мікрометру		у мікрометрах					
			ширина	довжина	ширина	довжина	площа			

Завдання. Розрахувати середню площу продихової щілини, загальну площу продихових отворів, площу, що займають всі продихові отвори, у відсотках від загальної поверхні листа. Зробити висновок про вплив ярусності на розміри поверхні листа, що випаровує.

РОБОТА № 7

Порівняння транспірації верхньої і нижньої сторін листа хлоркобальтовим методом (по Шталю)

Метод кобальтової проби заснований на зміні кольору фільтрувального паперу, просоченого хлоридом кобальту, при поглинанні ним парів води, що транспірується поверхнею листа. За часом, необхідним для переходу забарвлення кобальтового паперу з блакитного (колір сухого CoCl_2) до рожевого (колір $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) судять про інтенсивність транспірації рослин.

Мета роботи: встановити різну інтенсивність транспірації верхньої і нижньої сторін листа хлоркобальтовим методом

Матеріали і обладнання: свіже листя рослин (гортензії, фуксії, традесканції і ін.); кружки хлоркобальтового папіру діаметром 1 см наклеєні ліпкою стрічкою на предметні скельця; пінцет; мікроскоп; лезо бритви; предметні і покривні стекла; препарувальна голка; стаканчик з водою.

Порядок виконання роботи.

Відклеїти ліпку стрічку з двома кружками хлоркобальтового паперу і негайно прикласти кружки до двох сторін листка (безпосередньо на рослині). Хлоркобальтові папірці слід тримати за ліпку стрічку, не торкаючись до них пальцями, від яких можуть залишитися рожеві плями. Щоб усунути дію атмосферної вологи, приклейте ліпку стрічку папірцями до листка, а ліпкою стрічкою назовні. Спостерігати за зміною забарвлення хлоркобальтового паперу і записати результат.

Після закінчення досліду досліджують під мікроскопом епідерміс верхньої та нижньої сторін листа та підраховують кількість продихів у полі зору. Для цього переглядають по три-п'ять полів зору на трьох препаратах кожного варіанту і обчислюють середнє.

Результати досліду записують до таблиці.

Таблиця - Транспірація верхньої і нижньої сторони листа

Маса хлоркобальтового паперця, мг	Сторона листа	Час спостереження		Час до порожевіння паперу	Число продихів в полі зору мікроскопу, шт.
		початок	кінець		

Завдання: замалювати зрізи верхнього і нижнього епідермісу дослідного листка (або іншого листка цієї ж рослини) і зробити висновки про причини різної інтенсивності транспірації верхньої і нижньої сторін листа даної рослини і про співвідношення продихової та кутикулярної транспірації.

РОБОТА № 8

Підняття води в рослині по судинах

Рух води здійснюється по судинах і трахеїдах. Вода в судинах

знаходиться у вигляді суцільних водяних ниток, які спираються на живі клітини кореня і сполучені з живими клітинами листка. Сила налипання води до стінок судин і сила зчеплення окремих молекул води між собою дорівнює декільком сотням атмосфер. Для пересування води вгору потрібно, щоб клітини, які випаровують воду, мали достатню всисну силу. В клітинах листової паренхіми вона сягає 20-40 атм. і більше. Вода випаровується листком і тягне за собою водяну нитку. Рух води по судинах пояснюється присмоктуючою силою транспірації, кореневим тиском і наявністю безперервних водяних ниток.

Присмоктуюча сила транспірації і сили зчеплення води в рослині зумовлюють рух води в рослині і без кореневої системи. Це можна бачити на досліді з гілками або листками рослин, які ставлять в забарвлений розчин.

Мета роботи: дослідити підняття води з барвником по судинах ксилеми в зразках листків.

Матеріали і обладнання: листок герані, суцвіття спатіфілліума та білі квіти інших рослин; мікроскоп; 1% розчин еозину; препарувальне обладнання; предметні і покривні скельця; колба.

Порядок виконання роботи.

Зрізають листок герані (під водою) і ставлять черешок в розчин еозину. Виставляють на яскраве світло. Через півгодини жилки листка забарвлюються в рожевий колір. Роблять зрізи листка під мікроскопом. Звертають увагу, по яких частинах провідного пучка пересувається забарвлений розчин.

Завдання: зробити висновок, по яких елементах провідного пучка пересувається вода; замалювати основний пучок і відзначити забарвлені елементи.

Контрольні питання до теми «Водний обмін рослин».

1. Яке значення має вода в життєдіяльності рослинного організму?
2. Охарактеризуйте стан і фракційний склад води в рослині.

3. Якими методами визначають вільну та зв'язану воду в рослинних тканинах.
4. Дайте визначення поняттям дифузія та осмос. Від чого залежить напрям дифузії?
5. Яке значення мають явище осмосу та процеси гідратації для рослинної клітини?
6. Що таке водний потенціал? Перелічіть його складники.
7. В якому стані клітини водний потенціал дорівнює осмотичному потенціалу, а в якому — нулю?
8. Чому підживлення посівів мінеральними добривами під час посухи не лише неефективне, а й шкідливе?
9. Поясніть явище тургору. Тургорний тиск.
10. Підсисна сила та її зв'язок з тургорним тиском.
11. Поясніть, чому у рослини, корені якої занурені в чисту воду, в разі додавання до неї солей можливе тимчасове в'янення, однак через короткий проміжок часу її тургор відновлюється.
12. Які особливості має коренева система рослини в зв'язку з її функцією поглинання води із ґрунтового розчину?
13. Що таке гутація і «плач» рослини?
14. Простежте шлях молекули води від краплини дощу, яка потрапила в ґрунт, до водяної пари, що надійшла в повітря крізь продихи листка. Опишіть відповідні процеси та назвіть фізичні сили, як керують ними на кожному етапі.
15. Які особливості водного режиму у рослин різних екологічних груп?
16. Як регулюється процес надходження та процес випаровування води рослинами?
17. Охарактеризуйте явище транспірації. В чому різниця між продиховою та кутикулярною транспірацією?
18. Будова продихів та механізм їх рухів.
19. Кількісні показники транспірації Коли виникає водний дефіцит у рослин і до яких початкових і наступних наслідків він приводить?
20. Поясніть вплив на рослини надлишку та нестачі вологи.

Тестові завдання до теми «Водний обмін рослин».

1. Всисна сила клітини дорівнює нулю за умови:
 - 1) максимального тургору та мінімального осмотичного тиску;

- 2) максимального осмотичного тиску та мінімального тургору;
- 3) коли осмотичний тиск дорівнює тургорному тиску.

2. Кількість продихів:

- 1) більша на зовнішній поверхні листка;
- 2) більша на внутрішній поверхні листка;
- 3) однакова на обох.

3. Внаслідок ранньовесняного потіку соку по рослині може спостерігатись явище:

- 1) «плачу»;
- 2) гутації;
- 3) транспірації.

4. В клітинах яких рослин осмотичний тиск клітинного соку найбільший?

- 1) у степових рослин;
- 2) у гігрофітів;
- 3) у галофітів - рослин, які зростають на засолених ґрунтах?

5. В якому випадку величина осмотичного тиску зростає?

- 1) при підвищенні концентрації клітинного соку;
- 2) при перетворенні цукру в крохмаль;
- 3) при насиченні клітин водою?

6. Всмоктувальна сила $S = P - T$. Яке значення буде мати S при повному насиченні клітин водою?

- 1) $S = P$;
- 2) $S = 0$;
- 3) $S > 0$.

7. В якому випадку тургорний тиск наближається до 0?

- 1) у тургесцентній клітині;
- 2) при циторизі;
- 3) у плазмолізованій клітині?

8. Що відбудеться, якщо клітину в стані початкового плазмолізу з осмотичним тиском 2000 кПа помістити в розчин з осмотичним тиском 1200 кПа?

- 1) не зміниться;

- 2) ввійде в стан опуклого плазмолізу;
- 3) ввійде в тургорний стан?

9. В яку сторону зміниться довжина кусочка рослинної тканини при зануренні її в розчин з осмотичним тиском 1 МПа, якщо відомо, що кусочок цієї ж тканини в розчині з осмотичним тиском 0,8 МПа не змінив своїх розмірів?

- 1) не зміниться;
- 2) збільшиться;
- 3) зменшиться.

10. Який тип руху продихів відноситься до гідропасивних?

- 1) закривання продихів в результаті механічного тиску сусідніх епідермальних клітин заповнених водою;
- 2) відкривання і закривання продихових щілин, залежне від зміни світла і темряви;
- 3) рух, обумовлений зміною вмісту води у самих замикаючих клітинах.

11. При утворенні органічної речовини масою 1г рослина транспірувала воду масою 730г. Яка одиниця транспірації відповідає цьому показнику:

- 1) транспіраційний коефіцієнт;
- 2) економність транспірації;
- 3) продуктивність транспірації.

12. Відносна транспірація - це:

- 1) кількість грамів води, витраченої на нагромадження сухої речовини;
- 2) кількість грамів випарованої води за одиницю часу з одиниці випаровуючої поверхні;
- 3) відношення кількості води, випарованої з поверхні листка, до кількості води, яка випарувалась з вільної водної поверхні тієї ж площі за той же час.

13. Відомо, що в період весняного сокоруху в пасоці деревних рослин міститься багато розчинних цукрів. Яке їх походження?

- 1) поглинаються коренями з ґрунту;
- 2) синтезуються в коренях;

3) утворюються при гідролізі полісахаридів, відкладених у корневій системі.

14. Які з названих факторів послаблюють інтенсивність транспірації:

- 1) високий рівень оводненості тканин;
- 2) висока вологість повітря;
- 3) висока позитивна температура.

15. Осмос це:

- 1) повільна дифузія розчинника та речовин крізь напівпроникну перетинку
- 2) спрямований рух іонів за дії електричного струму
- 3) фільтрація біологічних рідин та розчинів крізь напівпроникну перетинку
- 4) взаємне проникнення речовин однієї до другої

16. Кількість води, що випаровується з одиниці листової поверхні за одиницю часу називають:

- 1) транспіраційним коефіцієнтом
- 2) продуктивністю транспірації
- 3) відносною транспірацією
- 4) інтенсивністю транспірації

17. Молекули води рухаються в напрямку:

- 1) з розчину меншої концентрації до розчину з більшою концентрацією
- 2) з розчину більшої концентрації до розчину з меншою концентрацією
- 3) між розчинами однієї концентрації

18. Осмотичний тиск зростає:

- 1) при збільшенні концентрації розчину
- 2) при зменшенні концентрації розчину
- 3) при розведенні розчину
- 4) не залежить від концентрації розчинів

19. При повному насиченні клітини водою:

- 1) осмотичний тиск дорівнює тургорному тиску
- 2) осмотичний тиск більше тургорного тиску
- 3) осмотичний тиск менше тургорного тиску
- 4) осмотичний тиск не зв'язаний з тургорним тиском

20. Водний потенціал клітинного соку дорівнює:

- 1) $\varphi < 0$
- 2) $\varphi > 0$
- 3) $\varphi = 0$

21. Переміщення йонів через клітинну оболонку до плазматичної мембрани відбувається:

- 1) дифузією
- 2) активним транспортуванням
- 3) за допомогою йонних насосів
- 4) за допомогою білків-переносників

22. В корені вода в радіальному напрямку рухається анопластно:

- 1) від корневих волосків до корової паренхіми
- 2) від корневих волосків до ендодерми
- 3) від корневих волосків до ксилеми
- 4) від періциклу до флоєми

23. Вода переважно поглинається у корені:

- 1) в зоні кореневого чехлика
- 2) в зоні росту
- 3) в зоні розтягування
- 4) в зоні корневих волосків

24. Плач рослин пояснюється:

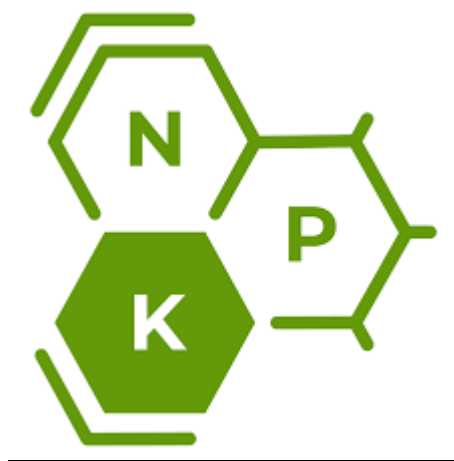
- 1) високою вологістю повітря
- 2) швидкою зміною температури
- 3) корневим тиском
- 4) тургорним тиском

ЗАДАЧИ

1. Розчини з осмотичним тиском 0,8 та 1,0 МПа викликали плазмоліз клітини досліджуваної тканини, а в розчинах, осмотичний тиск

- яких 0,4 та 0,6 МПа, плазмолізу не спостерігалось. Чому дорівнює осмотичний тиск клітинного соку?
2. Чому дорівнює всисна сила клітин, якщо відомо, що при зануренні їх в 0,2М розчин сахарози розміри клітин збільшились, а в 0,4М залишились без змін? Дослід проводився при $t_0 = 22^{\circ}\text{C}$.
 3. Яку концентрацію має розчин сахарози, який створює осмотичний тиск 2,9 атм при температурі 17°C ?
 4. Транспіраційний коефіцієнт дорівнює 250 мл/г. Яка продуктивність транспірації?
 5. Маса листка в стані повного насичення була рівна 1,02г, а після втрати тургору зменшилась до 0,9г. Визначити величину водного дефіциту клітин листка (в %), якщо відомо, що абсолютно суха маса цього листка 0,42г?
 6. Паросток зважений одразу після зрізу мав вагу 10,26 г, через 3 хвилини - 10,17 г. Площа листової поверхні становить 240 см^2 . Знайти інтенсивність транспірації ($\text{г/година}\cdot\text{см}^2$)?
 7. Рослина з листовою поверхнею $1,2\text{ дм}^2$ транспірувала за 4 хв 0,06г води. При таких умовах з відкритої водної поверхні площиною 20 см^2 за 2 години випарувалося 0,6г води. Визначити відносну транспірацію.
 8. Рослина з листовою поверхнею $1,5\text{ дм}^2$ транспірувала за 10 хв 0,12г води. При таких умовах з відкритої водної поверхні площиною 40 см^2 за 3 години випарувалося 0,9г води. Визначити відносну транспірацію.

ТЕМА:
МІНЕРАЛЬНЕ ЖИВЛЕННЯ РОСЛИН



РОБОТА № 1

Визначення вмісту золи в різних органах рослин та мікрохімічний аналіз золи

В різних частинах рослини міститься неоднакова кількість живих клітин, тому кількість золи в них теж різна. Зола – це залишок, який отримують після спалювання органічних речовин. При спалюванні азот, фосфор, вуглець, водень та частково кисень видаляються, а в золі залишаються окисли ряду елементів – натрій, калій, кальцій, залізо. Ґрунтово-кліматичні, агротехнічні умови вирощування рослин, а також вид, сорт, особливості досліджуваних тканин впливають на вміст та склад зольних елементів. Наприклад, в листках міститься золи більше, ніж в коренях, стовбурі та корі. Окремі види рослин мають здатність

нагромаджувати окремі елементи. Так, концентрація бору в листках бобових культур та капусти значно вища, ніж у злакових, а вміст кальцію в листках бобових сягає кількох відсотків на суху вагу, в той час у злакових культур їх не більше 0,5%. Зольні елементи відіграють важливу роль в обміні речовин рослин, входять до складу біологічно-активних сполук. Для виявлення макро- та мікроелементів у рослинній золі, користуються реакціями, в результаті яких утворюються кристали або розчин набуває забарвлення при наявності певного елемента.

Мета роботи: визначити якісний склад золи різних частин рослини в залежності від різних умов мінерального живлення.

Матеріали і обладнання. зола різних частин дослідних рослин, 10% розчин соляної кислоти, дистильована вода, аміак, 1% розчини: нітрату стронцію, молібдату амонію в 15% азотній кислоті, жовтої кров'яної солі, сульфату талію, сірчаної кислоти, фосфату натрію; скляні палички, пробірки, паперові фільтри або вата, скляні лійки, предметні стекла, мікроскопи, електроплитка.

Порядок виконання роботи

Частина мінеральних речовин, що входять до складу золи розчинна в кислоті, частина у воді. Тому, із дослідного зразка золи необхідно приготувати два розчини: кислотний і водний. У дві пробірки (для визначення якісного складу золи певної частини

рослини) насипати $0,30 \text{ см}^3$ золи та додати в першу 2 мл розчину 10% соляної кислоти (HCl), другу – 2 мл води (H_2O). Добре розмішати скляною паличкою та відставити на 15 хв. Потім профільтрувати досліджувані розчини крізь тонкий шар вати або невеличкий паперовий фільтр у чисті пробірки.

Реакції проводять на предметних стеклах. На відстані 1–1,5 см нанести краплину витяжки золи і реактиву. Повільно та обережно з'єднати ці дві краплини скляною паличкою. Відбувається реакція при взаємодії розчину з реактивом і утворюються кристали характерні для того, чи іншого елемента (Рис.).

Слід зазначити, що великі, чіткі кристали утворюються при повільному обережному з'єднанні крапель препаративною голкою або скляною паличкою, а дрібні, малопомітні при швидкому та повному перемішуванні краплин. Утворені кристали необхідно замалювати.



Рисунок - Кристали
(під мікроскопом).

1. кристали хлориду талію

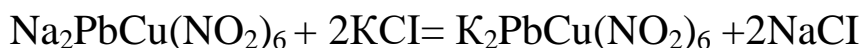
2. кристали свинцево-мідного нітрату калію

3. кристали сульфату кальцію (гіпсу)

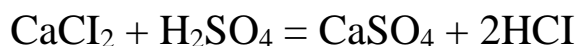
4. кристали фосфорноаміачномагнезіальної солі

5. кристали фосфорномолібдату амонію.

Виявлення калію здійснюють у водному розчині золи за допомогою розчину комплексної солі $\text{Na}_2\text{PbCu}(\text{NO}_2)_6$. Краплю водної витяжки золи на предметному склі підсушити, потім на залишок нанести краплю реактиву. Через 2-3 хв розглянути під мікроскопом. За наявності калію бачимо темно-коричневі кубічної форми кристали свинцево-мідного нітрату калію. Реакція відбувається за рівнянням:



Виявлення кальцію здійснюється за допомогою 1%-го розчину H_2SO_4 . На предметне скло нанести краплю солянокислої витяжки, додати краплю 1%-го розчину H_2SO_4 і підсушити над плиткою. У ході реакції утворюються голчасті кристали гіпсу.

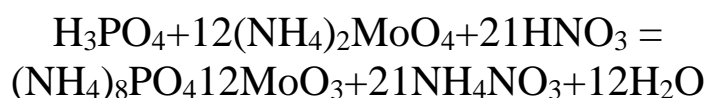


Виявлення магнію. Краплину витяжки золи нейтралізувати розчином аміаку, а потім з'єднати з краплиною Na_2HPO_4 . Після

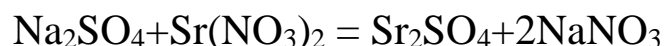
нагрівання випадають кристали фосфорно-аміачно-магnezіальної солі у вигляді прямокутників, зірочок, квадратиків



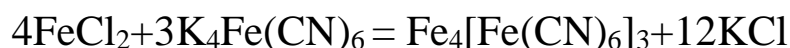
Для виявлення **фосфору** крапля солянокислої витяжки золи на предметному склі з'єднується з 1%-вим розчином молібдату амонію в 1%-ому розчині HNO_3 . Випадають зеленувато-жовті кристали фосфорномолібденового аміаку за реакцією



Для виявлення **сірки** до краплі солянокислої витяжки золи додати краплю 1%-го розчину нітрату стронцію і трохи нагріти. Утворюються дрібні кристали сірчанокислого стронцію



Для виявлення **заліза** використовують кольорову реакцію з 1%-вим розчином жовтої кров'яної солі $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$. Утворюється берлінська лазур за формулою:



Завдання: Зробити висновки про кількість і вміст елементів у золі рослини.

РОБОТА № 2

Вивчення впливу елементів живлення на ріст рослин

Виключення кожного з макроелементів приводить до порушення структур і обміну речовин рослин, гальмуванню їхнього росту й надалі - до загибелі. Однак видимі ушкодження проявляються не відразу й не одночасно. Найбільше швидко позначається виключення азоту й кальцію: першого - через високу потребу в ньому зростаючих рослин, другого - через нездатність до повторного використання, або

реутилізації. До нереутилізуємих або важко реутилізуємих мінеральних елементів ставляться також мікроелементи, крім бора, хлору, йоду. Високим ступенем реутилізації відрізняються азот, фосфор, сірка, калій, у меншому ступені - магній. Тому недолік перерахованих елементів проявляється в тривалих дослідах (більше 2 тиж).

Мета роботи: ознайомитися з ознаками голодування рослин за окремими елементами мінерального живлення. Навчитися готувати поживні суміші.

Матеріали і обладнання. Проростки рослин, концентровані розчини KNO_3 , $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, KCl , NaCl , KH_2PO_4 , Na_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, приготовлені з таким розрахунком, щоб 5-10 мл цього розчину відповідали концентрації солі в нормальній суміші Хогланда—Снайдерса; наважка з $\text{CaSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0,5%-вий розчин цитрату або тартрата заліза; розчини борної кислоти й сульфату марганцю. Літрові скляні банки, паперові чохли для банок, шпагат, дерев'яні пробки, бюретки на 50 мл.

Порядок виконання роботи.

Приготування поживних сумішей. Готують повну поживну суміш по Хогланду-Снайдерсу й поживні суміші з виключенням азоту, фосфору й калію. При виключенні з поживної суміші будь-якого елемента, пов'язані з ним елементи вносять в еквівалентних кількостях у вигляді солей, що не містять елемент, що виключає.

Для готування концентрованих маточних розчинів солей, що входять у суміш Хогланда-Снайдерса, становлять робочі таблиці, у яких указують необхідну кількість солей на обраний об'єм розчину (див. таблицю). Маточну поживну суміш готують із того розрахунку, що 10 мл розчину солей макроелементів відповідає їхній кількості в 1 л суміші Хогланда-Снайдерса (на 1 л або 1 кг субстрату). Мікроелементи вносять по 2 мл на 1 л поживної суміші. (Необхідність внесення мікроелементів і їхній вибір визначає викладач.)

Суміш без азоту. До складу суміші азот входить у вигляді солей $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ і KNO_3 . Для того щоб після виключення його з поживного розчину концентрації калію й кальцію зберігалися на колишньому рівні, KNO_3 , заміняють на KCl , а $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ — на $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

Робоча таблиця для приготування поживної суміші по Хогланду-Снайдерсу

Сіль	Маса солі для приготування 1 л маточного розчину, мл	Для готування 1л суміші Хогланда-Снайдерса додають маточного розчину, мл		
		1 норма	0,5 норми	0,2 норми
<i>Макроелементи (на 10 л)</i>				
KNO_3	510	10,0	5,0	2,0
$Ca(NO_3)_2$	10% р-н густина 1,0771	8,2	4,1	1,6
KH_2PO_4	136	10,0	5,0	2,0
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	490	10,0	5,0	2,0
<i>Мікроелементи (на 2 л)</i>				
$MnCl_2 \cdot 4H_2O$	0,35	Готують в окремих склянках		
H_3BO_3	0,55			
$ZnSO_4$	0,05			
$CuSO_4$	0,05			
MoO_2	0,024			
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	4,0			

Примітка. Посуд для готування розчинів макро- і мікроелементів повинний бути з кольорового скла, щоб уникнути розмноження мікроскопічних водоростей.

Розрахунок виконують, користуючись даними таблиці.

Замість 0,51 г KNO_3 , виключеного по азоті з поживної суміші, у розчин вносять еквівалентне по змісту калію кількість KCl , рівне 0,38 г.

Замість 0,82 г $Ca(NO_3)_2$ вносять 0,86 г $CaSO_4 \cdot 2H_2O$.

Суміш без фосфору. Сіль KH_2PO_4 заміщають сіллю KCl .

Замість 0,136 г KH_2PO_4 беруть 0,08 г KCl .

Суміш без калію. Сіль KH_2PO_4 заміняють $Na_2PO_4 \cdot H_2O$, а сіль KNO_3 — $NaNO_3$.

На 1 л суміші беруть 0,138 г солі Na_2PO_4 і 0,425 г $NaNO_3$

Подібним же чином можна проводити розрахунки при виключенні інших катіонів і аніонів суміші.

Закладка досліду й облік результатів.

У літрову банку наливають 700 мл водопровідної води, по черзі вводять туди у вигляді розчинів всієї солі поживної суміші

(CaSO₄*2H₂O вносять у порошок). Після додавання чергового розчину вміст посудини помішують скляною паличкою. Після внесення всіх солей доливають водою до об'єму 850 або 900 мл. Закривають банку дерев'яною пробкою, що служить опорою для рослини. Висаджують в отвори пробки однакове число вирівняних проростків і закріплюють їх негігроскопічною ватою.

Корінь занурюють у розчин, рівень якого повинен бути нижче пробки залежно від довжини корінь на 1-5 см. Закривають корінь від світла й оберігають розчин від перегріву, для чого надягають на банку паперовий чохол або поміщають її в полотняний мішок (бажано, щоб внутрішня сторона його була чорна, а зовнішня - біла). Прикріплюють етикетку, на якій простим олівцем позначають факультет, номер групи, прізвище й варіант досліду.

Поживні розчини щодня продувають повітрям через розпилювачі за допомогою компресора або гумової груші протягом 15-20 хв. По мірі убування поживного розчину за рахунок транспірації посудини доливають водою до вихідного рівня. Тривалість досліду 4 тижня.

Результати досліду записують у таблицю за наведеною формою.

Таблиця - Розвиток рослин залежно від складу поживної суміші

Поживна суміш	повторність	Висота рослин, см	Число листів	Маса надземної частини		Маса коренів		Відношення маси надземної частини до маси коренів	Число продихів у полі зору	Зовнішній вигляд рослин (фарбування листів, характер ушкоджень)
				г/посудина						
				сир	сух	сир	сух			
Повна										
Без N										
Без P										
Без K										

Завдання. Записати порядок та методику приготування поживної суміші, виявити ознаки дефіциту певних елементів живлення.

РОБОТА № 3

Виявлення нітратів в рослинах

Інтенсифікація землеробства в ХХ в. породила нітратну проблему. Азотні добрива, що вносяться без дотримання дози і правил, привели до збільшення змісту нітратів в рослинних продуктах до розмірів, загрозливих здоров'ю людини.

Попадання великої дози нітратів в організм загрожує гострим отруєнням. Нерідкі отруєння динями, кавунами й іншими продуктами з підвищеним вмістом нітратів; можливо отруєння питною водою за рахунок попадання підвищеної кількості добрив у водні джерела.

За даними *Міністерства охорони здоров'я України*, гранично допустима доза нітратів для дорослої людини в добу складає 500 міліграм, токсична - 600 міліграм, для немовляти доза в 10 міліграм може бути смертельною. Відомості про вміст нітратів в овочах, їх розподілі по органах і тканинах дані в пропонованих таблицях.

Таблиця - Мінімальні і максимальні кількості нітратів в овочах, мг/кг

Культура	Мінімум	Максимум	Культура	Мінімум	Максимум
кавуни	44	572	Петрушка (зелень)	1760	1892
Баклажани	88	264	Ревень	1760	2420
Брюква	398	528	Редька черний	1540	1760
Горошок зелений	22	88	Редис	440	2640
Горчиця салатна	1320	1760	Репа	660	880
Дині	44	484	Салат	396	2860
Капуста біла	66	2860	Буряк столовий	44	2640
Кабачки	196	704	Крес-салат	320	4840
Перець солодкий	44	352	Картопля	44	968
Лук зелений	44	1320	Гарбуз	308	1320
Лук ріпчатий	66	880	Укроп	396	2200

Морква	176	2200	Квасоля	22	880
Огірки	88	528	Часник	44	308
Патисони	176	880	Шпинат	660	3960
Острогін	1320	2200	Щавель	264	396

Таблиця - Вміст нітратів в різних органах зелених овочів, мг/кг

Орган	Культура		
	Шпинат	Коріандр	Укроп
Корень	74	90	384
Стебло	833	163	487
Черешок листа	814	165	441
Пластинка листа	213	14	95

Солі азотної і азотистої кислот, що поглинаються корінням з ґрунту, відновлюються в рослині до аміаку, який використовується для синтезу амінокислот і інших з'єднань. Для відновлення нітратів потрібен АТФ, що утворюється в процесі окислювального або фотосинтетичного фосфорілювання.

При достатньому вмісті розчинних вуглеводів і високої активності відповідних ферментів перераховані біохімічні процеси відбуваються в клітках кореня. Проте за несприятливих умов частина нітратів може пройти через паренхіму кори кореня в незміненому вигляді. В цьому випадку нітрати потрапляють в судини ксилеми і піднімаються з висхідним током до листа, де і відбувається їх відновлення.

Визначення змісту нітратів в соку, віджатому із стебел, черешків і пластинок листа, дозволяє судити про відновлення нітратів в корінні: чим менше в них виявляється іонів нітрату, тим активніше відбувається цей процес в клітках кореня. Зіставлення змісту нітратів в різних органах рослини, наприклад в черешках, пластинках листа, корінні, дає уявлення про нітратредуктазної активність цих органів.

Таблиця - Шкала для визначення нітратів в зрізах і соку рослин (по Церлінг)

Бал	Забарвлення зрізу або соку	Необхідність в азотних добривах	
		на початку вегетації	в фазу цвітіння
0	Немає забарвлення	Дуже сильна (60 кг/га)	Середня (30 кг/га)
1	Блідо-блакитна, швидко зникає	Сильна (60 кг/га)	Слабка (30 кг/га)
2	Блакитна провідних судин	Середня (30 кг/га)	Не має потреби

3	Блакитна, зникає через 2—3 хв	Слабка (30 кг/га)	»
4	Синя,	»	»
5	Темно-синя, зберігається деякий час	Не має потреби	»
6	Темно-синя, стійка	надлишок нітратів	

Для виявлення нітратів можна використовувати реактив з дифеніламіном, який у присутності іона NO_3^- дає синє забарвлення. По інтенсивності того, що синить можна судити про кількість нітратів в досліджуваному об'єкті.

Дані наведеної таблиці дозволяють за допомогою цього реактиву оцінити кількість нітратів в рослині на різних стадіях розвитку і зробити висновок про необхідність азотної підгодівлі. Мала кількість нітратів на початку вегетації рослин означає нестачу азотного харчування. Така ж мала кількість їх у фазі цвітіння є нормою і не вимагає підгодівлю рослин.

Встановлені наступні нормативи за змістом нітратів в сільськогосподарській продукції (у мг/кг за нітрат йоном). У чисельнику приводяться норми для ранніх і тепличних овочів, в знаменнику - для пізньої продукції відкритого ґрунту:

Норми вмісту нітратів в продуктах

картопля - 250	томати - 300/150
огірки - 400/150	перець солодкий - 200
капуста - 900/500	лук ріпчастий - 80
кавуни - 60	кабачки - 400
морква - 400/250	лук-перо - 800/600
дині - 90	

Мета роботи: познайомитися з простим і доступним способом визначення нітратів в рослинній сировині і грамотно оцінити їх кількість. Це необхідно для визначення дози внесення азотних добрив в період вегетації рослин, а також для вивчення того, які локалізовані нітрати в різних частинах і органах рослини, і оцінки їх кількості в харчових продуктах.

Матеріали і обладнання: розчин KNO_3 або NaNO_3 у концентраціях, мг/л: 1000, 900, 800, 700, 600, 500, 400, 300, 200, 100, 50, 10 в невеликих склянках; 1% розчин дифеніламіну в концентрованій H_2SO_4 у крапельниці (зберігати в темноті на підставці), пінцет, скляні палички, плоскі білі фарфорові тарілки,

шматок скла, фломастер, кольорові олівці, фільтрувальний папір, ножиці, ніж, скальпель, бритва. Рослини: будь-які дикорослі рослини, що виростають в різних екологічних умовах; культурні рослини, вирощені на різних живильних середовищах, будь-які овочі, фрукти, зелень.

Порядок виконання роботи

На білу фарфорову поверхню тарілки або скляної пластинки наносять краплі контрольних розчинів KNO_3 або $NaNO_3$ і додають одну краплю дифеніламіну. Заповнюють концентраційну шкалу забарвлення, відповідну певному змісту нітратів.

Таблиця - Концентраційна шкала забарвлення на нітрати

Концентрація $NaNO_3$, мг/л	Зображення кольору	Опис кольору
10		
50		
100		
200		
300		
400		
500		
600		
700		
800		
900		
1000		

За допомогою цієї шкали кількісно оцінюють вміст нітратів в рослинному матеріалі, порівнюючи з нею за кольором досвідчену пробу.

Узяті для дослідження плоди, бульби, коренеплоди, цибулини і т.д. розкладають на столі, відокремлюють тканини і частини органів для аналізу. Сік віджимають на поверхню скла, під яким лежить лист білого паперу, або на поверхню тарілки за допомогою пінцета або скляної палички. Зразки підписують фломастером. Одночасно гострою бритвою роблять зрізи тканини, що вивчається, органу. На зріз і вичавлену порцію соку переносять краплю дифеніламіну. Оцінюють кількість нітратів згідно з даними концентраційної шкали забарвлення, заносять результати по їх змісту в робочу таблицю.

Таблиця - Вміст нітратів в рослинах

Вид рослин	Умови вирощування	Забарвлення		Кількість NO ₃ ⁻ , мг/кг		Дозволена кількість продукта, г за добу для людини	Необхідність внесення азотних добрив до цвітіння
		зрізу	соку	в зрізі	в соку		

Змиваючи після закінчення роботи тканини і сок, необхідно пам'ятати про властивості концентрованою сірчаної кислоти залишати опіки при попаданні на шкіру.

Завдання: у таблицю, оформлену по вищенаведеному зразку, записати результати аналізу тканин і органів досліджуваних рослин з урахуванням умов їх зростання. Зробити висновок про можливість вживання цих рослин в їжу і про необхідність внесення азотних добрив у фазі вегетації.

РОБОТА № 4

Визначення об'єму кореневої системи.

Для вимірювання коренів застосовується об'ємомір, що складається з циліндра, дно якого з'єднується каучуковою трубкою з піпеткою з поділками на 0,01мл. В циліндр наливається вода в кількості, достатньому для занурення кореневої системи, що вимірюється, а піпетка встановлюється на такій висоті, щоб меніск води здався біля краю градуйованої частини піпетки, зверненої до каучукової трубки. Чутливість приладу визначається кутом нахилу піпетки: чим ближче до горизонтального напрямку розташована піпетка, тим чутливіший прилад. При зануренні у воду дослідженого коріння рівень рідини в циліндрі підвищиться, викликавши зсув меніска в піпетці. Виймають коріння з циліндра і визначають його об'єм за кількістю води, яку потрібно долити, щоб викликати такий же зсув меніска в піпетці.

Мета роботи: визначити об'єм кореневої системи досліджуваних рослин за допомогою приладу Сабініна-Колосова.

Матеріали і обладнання: 3-4 – тижневі кореневі системи цибулі, квасолі, гороху, злаків; об'ємомір.

Порядок виконання роботи

Для вимірювання об'єму коренів служить об'ємомер, що складається з циліндра, дно якого з'єднується каучуковою трубкою з піпеткою (з поділами на 0,1 мл). Піпетку зміцнюють у затиску так, щоб її можна було орієнтувати під бажаним кутом до горизонталі. У циліндр наливають дистильовану воду в достатній кількості для занурення вимірюваної кореневої системи, а піпетку встановлюють на такій висоті, щоб меніск води опинився біля нижнього краю градуйованої частини піпетки, зверненої до трубки каучукової. Чутливість приладу визначається кутом нахилу піпетки. Чим ближче розташована піпетка до горизонтального напрямку, тим чутливіший прилад (рис.).

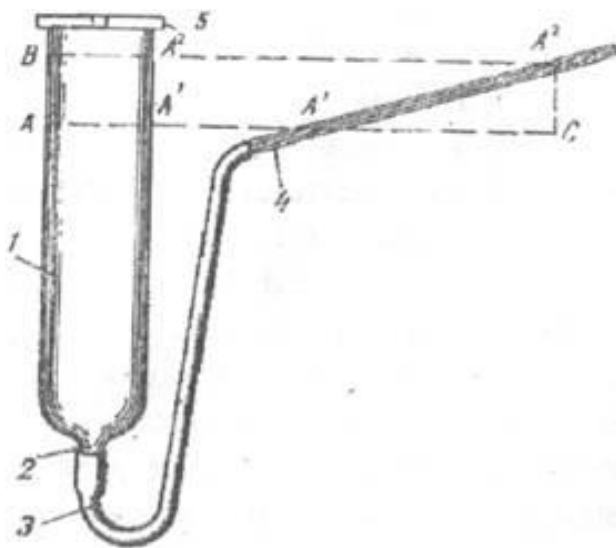


Рисунок - Прилад Д.А. Сабініна та І.І. Колосова для визначення об'єму коріння:

1 - циліндричний посуд з відтягнутим кінцем (2); 3 - каучукова трубка; 4 - градуйована піпетка; 5 пробка; AA1 - вихідний рівень води у циліндрі; BB1 - рівень води в циліндрі після занурення коренів; A1-вихідне положення меніска в піпетці; A2 - положення меніска в піпетці після занурення коріння.

У 20-30 проростків злаків відрізають зернівки. Проростки збирають у пучок так, щоб кореневі шийки у всіх рослин були на одному рівні. Пучок укріплюють за допомогою вати в отворі, що розрізає по вертикалі до каучукової пробки. Обидві половинки пробки пов'язують ниткою. Вологим фільтрувальним папером видаляють з коріння краплі води, що прилипли. Подібну операцію виконують з іншими рослинами. Відзначають положення меніска (A1) в піпетці об'ємоміра і занурюють коріння в циліндр так, щоб пробка з

укріпленими в ній рослинами лежала на циліндрі, а рівень води був на рівні шийки коренів. Після занурення кореневої системи рівень рідини в циліндрі підвищиться і викличе зсув меніска в піпетці до положення А2. Після цього коріння виймають з циліндра, дають стекти воді з коренів у циліндр і, не змінюючи нахилу піпетки, доливають у циліндр воду, поки меніск у піпетці не займе знову положення А1. Знову занурюють коріння в циліндр і визначають положення меніска А2. Вийнявши коріння, не міняючи нахилу піпетки, встановлюють меніск в положення А1 і потім при тому положенні піпетки доливають з бюретки в циліндр таку кількість води, при якому меніск дійде до положення А2. Прилитий об'єм води дорівнює об'єму коріння, що вимірюється. Об'єм коренів визначають 2-3 рази та розраховують середню величину.

Результати досліджень заносять до таблиці.

Таблиця - Об'єм корневих систем різних видів рослин

Вид рослини	Число рослин в пробі	Покази за піпеткою		Відлік за бюреткою		Об'єм кореневої системи, см ²	
		А1	А2	В1	В2	проби	однієї рослини

Завдання: визначити середнє значення об'єму кореневої системи рослин, занести дані до таблиці, зробити висновок щодо об'ємів корневих систем різних рослин.

Контрольні питання до теми «Мінеральне живлення рослин».

1. Які основні функції виконують поживні елементи? Яка їхня класифікація?
2. По яких тканинах переміщуються мінеральні поживні речовини. Що визначає швидкість і напрям їхнього пересування?
3. Чому процес поглинання мінеральних елементів має вибіркового характер?
4. У якій зоні кореня, що активно росте, найбільша швидкість

- поглинання йонів?
5. Розкажіть про транспортування йонів у клітину. Яке значення має мембранний потенціал для процесів поглинання йонів клітиною. Поясніть вибірковість цього процесу, його залежність від метаболізму й енергетичного обміну.
 6. Назвіть рушійні сили пасивного й активного транспортування йонів.
 7. Поясніть залежність надходження солей крізь кореневу систему від присутності кисню, інтенсивності дихання, фотосинтезу тощо.
 8. Що таке анопласт, місце його локалізації? Що таке симпласт? Які шляхи ближнього транспортування йонів від ґрунтового розчину до центрального циліндра кореня?
 9. Розкажіть про механізм і шляхи висхідного пересування мінеральних солей по рослині.
 10. Які з елементів мінерального живлення впливають на пересування органічних речовин по флоемі?
 11. Назвіть основні етапи кругообігу азоту в природі. Чому аміак називають альфою та омегою азотного обміну в рослинах?
 12. Назвіть основні джерела азотного живлення вищих рослин.
 13. Перелічіть організми, що здатні засвоювати азот із повітря. Які існують симбіотичні азотфіксуючі організми?
 14. Назвіть ферменти, які беруть участь у відновленні нітратів.
 15. Розкажіть про механізм відновлення молекулярного азоту.
 16. Яка функція мікроорганізмів в азотному живленні рослин?
 17. Перелічіть шляхи асиміляції азоту в рослинах.
 18. Схарактеризуйте структурну функцію металів у рослинному організмі.
 19. Яке значення йонів заліза та міді у процесах фотосинтезу та дихання?
 20. Як можна визначити потребу рослин в елементах мінерального живлення?
 21. Розкажіть про фізіологічну функцію калію, кальцію та магнію в рослинному організмі.
 22. Поясніть фізіологічне значення мікроелементів у рослині.
 23. Які властивості ґрунту та рослин необхідно враховувати під час внесення добрив?

Тестові завдання до теми «Мінеральне живлення рослин»

1. Мінеральний елемент рослинної клітини, що не входить до складу зольних:

- 1) P 2) N 3) S 4) K 5) Ca 6) Mn

2. Мікроелементи в складі рослинної клітини:

- 1) Fe, K, C
2) P, Cr, Co
3) S, Mg, K
4) Mn, Cu, Ni

3. Форма взаємодії іонів у розчині, при якій сумарний ефект впливу на рослину на багато більше суми кожного ефекту:

- 1) антагонізм
2) синергізм
3) адитивна дія

4. Нітритредуктаза здійснює каталіз процесу:

- 1) відновлення NO_3
2) відновлення молекулярного азоту до амонію
3) відновлення NO_2
4) аммоніфікація
5) амінування кетокислот
6) окислення амонію до нітратів і нітритів

5. Процес в біологічному кругообігу азоту, в якому беруть участь бактерії роду псевдомонас:

- 1) симбіотическая азотфіксація
2) несимбіотическая азотфіксація
3) амоніфікація
4) нітрифікація
5) денітрифікація

6. Мікроелементи, необхідні для нормального протікання процесів симбіотичної азотфіксації:

- 1) Fe, B 2) Zn, Cr 3) Co, Mo 4) Mg, Cd

7. Дефіцит якого мінерального елемента, на відміну від азоту, викликає пожовтіння спочатку молодих листків:

1) N 2) P 3) S 4) K 5) Mg 6) Ca 7) Mn 8) B

8. Процеси іонного транспорту через мембрану, в яких беруть участь білки-переносники:

- 1) проста дифузія
- 2) іонні канали
- 3) полегшена дифузія
- 4) робота АТФазних насосів

9. Найбільш доступні для рослин азот і фосфор при рН:

- 1) 3-5
- 2) 4-6
- 3) 6-8
- 4) 7-10
- 5) 9-11

10. Яка функція бору дозволяє пояснити відмирання апікальної меристеми пагонів і коренів при його нестачі?

- 1) утворення цукроборатів, які швидко пересуваються по рослині;
- 2) бере участь у синтезі лігніну;
- 3) прискорює процес амінування органічних кислот.

11. Яка з властивостей міді сприяє підвищенню інтенсивності фотосинтезу?

- 1) активує фермент нітратредуктазу;
- 2) входить до складу білка пластоціаніну;
- 3) входить до складу ферментів аскорбіноксидази, поліфенолксидази.

12. Назвіть зовнішні ознаки нестачі фосфору в живленні рослин:

- 1) листки набувають синьо-зеленого забарвлення часто з пурпуровим чи бронзовим відтінком;
- 2) відбувається хлороз листків;
- 3) загнивання і відмирання листків.

13. Які з перчислених солей є фізіологічно кислими?

- 1) $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$;
- 2) $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$;
- 3) NaNO_3 .

14. Нітрати, поглинуті коренями вищих рослин, відновлюються до аміаку. В якій частині рослин виявляється найменша кількість нітратів?

- 1) в коренях;
- 2) в стеблах;
- 3) в листкових пластинках.

15. Переміщення йонів від кореневої епідерми до ендодерми відбувається:

- 1) лише апопластно
- 2) лише симпластно
- 3) апопластно та симпластно
- 4) за іншим механізмом

16. В польових умовах при проведенні тканинної експрес діагностики для визначення нітратів використовують:

- 1) кобальт-нітрит натрію
- 2) молібдату амонію та бензидин
- 3) дифеніламін
- 4) нітрат срібла

17. До якого елемента підходить опис. Входить до складу хлорофілу та фітіну. Приймає участь у синтезі зелених пігментів та фотосинтезі. Активує ряд ферментів гліколізу та циклу Кребса. При нестачі викликає мармуроподібний хлороз:

- 1) сірка
- 2) магній
- 3) залізо
- 4) фосфор

18. Нітратредуктаза каталізує реакцію:

- 1) $\text{NO}_3^- + 2e \rightarrow \text{NO}_2^-$
- 2) $\text{NO}_2^- + 6e \rightarrow \text{NH}_4^+$
- 3) $\text{N}_2 + 4\text{H}_2\text{O} + 6e \rightarrow 2\text{NH}_3 + \text{H}_2$
- 4) $\text{NH}_4^+ \rightarrow \text{NH}_2^+ + 2\text{H}^+$

19. Процес відновлення нітратів та нітритів до молекулярного азоту називається:

- 1) нітріфікацією
- 2) амоніфікацією
- 3) денітрифікацією
- 4) азотфіксацією

20. Яка з форм азоту безпосередньо метаболізується до складу органічних сполук:

- 1) N_2
- 2) NO_3^-
- 3) NO_2^-
- 4) NH_4^+

ЗАДАЧИ

1. Спори цвілевого гриба були внесені в живильне середовище, що містить цукор та різні солі, до складу яких входили азот, сірка, калій, магній, залізо та мікроелементи. Незважаючи на те, що зовнішні умови були цілком сприятливими, зростання гриба спостерігалося лише протягом перших двох днів, а потім припинилося. Як пояснити отриманий результат?
2. У яких частинах рослини спостерігається більш високий вміст зольних елементів: у деревині або у листі, у старих або в молодих листках? Як пояснити ці відмінності?
3. Шматочки черешка та листової пластинки досліджуваної рослини були поміщені в тарілку, розім'яті скляною паличкою та облиті розчином дифеніламіну в сірчаній кислоті. Черешок пофарбувався в темно-синій колір, а листова пластинка посиніла дуже слабо. Як пояснити отримані результати?
4. У сік, віджятий зі стебла, черешка та листової пластинки, додали розчин дифеніламіну в сірчаній кислоті. Жоден з перерахованих об'єктів не дав посиніння, незважаючи на те, що ґрунт, на якій вирощувалося рослина, була багата на нітрати. Зробити висновок з урахуванням отриманих результатів.
5. Як пояснити зменшення вмісту нітратів у листі при виставленні рослини на яскраве світло?
6. Які листки виявляють різкіші симптоми фосфорного голодування – верхні чи нижні? З чим це пов'язано?
7. У якого листа, молодого чи старого, раніше з'явиться хлороз при нестачі у ґрунті розчинних сполук заліза?
8. Рослини вирощувалися у вегетаційних судинах з досліджуваним ґрунтом. До першої посудини жодних добрив не вносилося (контроль), до другої додавалося калійне добриво, до третьої – фосфорне, четвертої - азотне. Інші умови (освітлення, полив, температура тощо) були для всіх однакові. Ріст рослин у другій посудині не відрізнявся від контрольного, у третій був трохи кращим, а в четвертому набагато краще, ніж у контрольній посудині. Зробіть висновки із наведених результатів.
9. У вегетаційному досліді вивчався вплив різних добрив на врожайність пшениці. Дослід був поставлений у чотирьох варіантах: 1) неудобрений ґрунт (контроль), 2) аміачна селітра, 3) суперфосфат; 4) аміачна селітра + суперфосфат. Урожай у другому варіанті вийшов у півтора рази вище, ніж у контролі, у третьому не

відрізнявся від контролю, а у четвертому у два рази більше, ніж у контролі. Як пояснити отримані результати?

10. Д. Н. Прянішніков встановив, що врожай люпину підвищувався приблизно однаково як при внесенні фосфориту ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$), так і при внесенні фосфату ($\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$), тоді як біла акація посилювала своє зростання тільки при добриві фосфатом, а при внесенні фосфориту зростала так само погано, як і без фосфорних добрив. Як пояснити результати цього досвіду?
11. Скільки суперфосфату (зі вмістом 18% P_2O_5) треба внести на ділянку площею 5 м^2 , щоб кількість P_2O_5 у рослині на 1 га становила 54 кг?
12. Яку кількість сірчаноокислого амонію потрібно внести під вегетаційну судину, що містить 2,7 кг ґрунту, виходячи з норми 0,08 г азоту на 1 кг ґрунту?

ТЕМА: ФІЗІОЛОГІЯ РОСТУ ТА РОЗВИТКУ РОСЛИН



РОБОТА № 1 Вплив світла на ріст рослин

З дією світла на рослину пов'язане дуже широке коло фізіологічних явищ - насамперед це фотосинтез, а також фотоморфогенетичний контроль над ростом, розвитком та органогенезом.

Якщо після проростання рослина не освітлюється, то триває подальше видовження міжвузіль, ріст та формування листків затримуються, в них не утворюється хлорофіл, порушується гранулярно-ламелярна структура хлоропластів. Такі рослини називають *етиольованими*. Всі процеси органогенезу затримуються, що може призвести до загибелі рослини.

Аналіз дії світла виявив, що найбільша активність належить променям синьої, червоної та дальньої червоної ділянок спектру. Механізм дії світла на морфогенетичні реакції ще мало досліджений.

Фоторецептори - кріптохроми та фітохроми сприймають світловий сигнал, трансдукують його та ініціюють експресію нової генетичної програми, тим самим формують певну морфогенетичну відповідь на дію зовнішнього фактору (світла).

Мета роботи: провести спостереження за морфогенетичним впливом світла на дослідні рослини.

Матеріали та обладнання: вегетаційні посудини, терези, лінійка, насіння дослідних рослин (бобові чи злакові).

Порядок виконання роботи.

Беруть три вегетаційних посудини та висівають в них насіння дослідних рослин. Дві з них поміщують в темряву, а третю залишають на світлі. Рослини поливають, через тиждень одну з посудин, що була у темряві виставляють на світло. Ще через тиждень аналізують рослини з трьох посудин за морфологічними параметрами. Результати заносять у таблицю.

Варіант	Сира маса, мг	Висота рослин, см	Кількість вузлів	Довжина міжвузль, см	Площа листків, см ²
Світло					
Темрява					
Темрява + світло					

Завдання: занести спостереження за морфологічними змінами росту рослин за різних умов освітлення та зробити висновки.

РОБОТА № 2

Визначення зон росту в органах рослин

Для вивчення ростових процесів широко застосовують метод нанесення міток на поверхню органа рослини через однакові відстані. По мірі росту органа відстані між мітками збільшуються й можуть бути використані для характеристики інтенсивності росту різних ділянок зростаючої зони органу. Мітки наносять тушшю (розтирають суху туш в 5%-ном розчині декстрину або альбуміну) або маркіровочною рідиною, отриманої із сажі або активованого вугілля й парафінового масла (сажу або активоване вугілля розтирають із парафіновим маслом до утворення густої рідини).

Для нанесення міток використовують щетинку, прив'язану до палички, тонко заточену дерев'яну паличку або нитку, змочену тушшю або маркіровочною рідиною. Якщо стебла досить прямі, для однорідного маркування зручно скористатися пластмасовим

гребінцем. Кінчики зубців гребінця притискають до штемпельної подушки, а потім до стебла або кореня. Чорнильні плями прилипнуть до рослини, і якщо їм дати висохнути, вони збережуться навіть після обережного поливу рослини. Для нанесення більше рідких міток можна використати кухонну яєцерізку, дротика якої варто змазати чорнилом.

Мета роботи: ознайомитися з методом визначення зони роста та швидкості роста кореня й стебла.

Матеріали і обладнання. Проростки гороху з коріннями довжиною 1,5-2 см, проростки соняшника висотою 2-3 см, вирощені в темряві, туш або маркіровочна рідина, деревні обпилювання. Препарувальні голки або тонко заточені дерев'яні палички, міліметровий папір, вологі камери.

Порядок виконання роботи.

Визначення зони росту кореня. Насіння гороху або квасолі, кінських бобів, кукурудзи пророщують у вологих обпилюваннях або перліті, де скляною паличкою роблять поглиблення для вільного строго вертикального росту кореня. Потім на невеликі (довжиною 1,5-2 см) зовсім прямі, попередньо обережно обсушені фільтрувальним папером, корінь (три-чотири кореня) наносять мітки, починаючи з кінчика. Відстані між мітками 1 мм. Мітки повинні бути тонкими й добре помітними. Далі проростки поміщають у сприятливі для росту умови: вологі камери, темні кімнати при температурі 20-25°C. Через 1 добу вимірюють відстані між мітками (при збільшенні ширини самих міток вимірюють від їхньої середини) і обчислюють середньодобовий приріст різних ділянок кореня.

Результати виражають графічно, відкладаючи по осі абсцис номери відрізків, а по осі ординат - прирости. Результати дослідження записують у таблицю за наведеною формою.

Таблиця - Визначення зони приросту кореня

Номер проростка	Зона приросту, мм									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10

Визначення зони росту стебла. Метод заснований на обліку приростів різних ділянок стебла за 1 добу. На чотирьох проростках соняшника висотою 2—3 см тушшю наносять (починаючи від верхівки

проростка) по десяти міток на відстані 2 мм друг від друга. Проростки поміщають у темне місце яри температурі 20—25°C. Через 1 добу вимірюють відстані між мітками й обчислюють приріст різних ділянок стебла.

Результати досліду записують у зошит і виражають графічно, відкладаючи по осі абсцис порядковий номер мітки, а по осі ординат - приріст. Результати досліду записують за формою, зазначеної для визначення зони росту кореня.

Завдання. Записати результати досліду та зробити висновки про характер росту кореня та стебла.

РОБОТА № 3

Вплив гібереліну на ріст карликових сортів рослин.

Фітогормони — це речовини, які синтезуються в рослинах у дуже малих кількостях, але фізіологічна роль їх у регуляції росту велика. Розрізняють групи фітогормонів: ауксини, гібереліни, цитокиніни, абсцизова кислота й етилен. Функції фітогормонів різні, але всі вони володіють рядом загальних властивостей: активують або гальмують ріст, пересуваються по рослині й тому можуть проявляти свою дію на відстані від місця їхнього синтезу. Фітогормони виявляють стимулюючу дію на ріст тільки в дуже малих концентраціях. Підвищена їхня концентрація викликає гальмування росту. На цій властивості гормонів заснований метод їхнього визначення за допомогою біологічних об'єктів, або метод біотестів. У цей час використовують регулятори росту, які одержують синтетичним способом. Їхня дія на ріст залежить також від концентрації. Як правило, у практиці для обробки рослин регулятори росту застосовують у молярній (10^{-4} — 10^{-12} М) або відсотковій концентрації.

Одним з найбільш типових проявів дії гіберелінів є їхня здатність викликати подовження стебла. Особливо сильно ця здатність гібереліну проявляється при обробці гормоном карликових рослин, які служать біотестом при визначенні гіберелінів.

Мета роботи: вивчити стимулюючу дію гібереліна на ріст стебла рослин карликового гороху або квасолі.

Матеріали і обладнання: хімічні склянки на 100 мл, піпетки на 5 мл, фільтрувальний папір, леза, лінійки, пінцети, поліетиленова плівка, круглі гумки, термостат, розчин гібереліну $5 \cdot 10^{-4}$ мг/л. **Рослини:** насіння карликових сортів гороху або квасолі.

Порядок виконання роботи

Насіння карликового сорту гороху попередньо замочують протягом 15 -20 год і пророщують 48 ч у термостаті при температурі 26 °С. Через 2 дні відбирають однакові проростки з довжиною корінця 1,5 - 2 см і 2-3 год витримують у холодильнику при температурі 0-1°С.

Готують розчини гібереліну в концентраціях 30 мг/л, 3,0 мг/л, 0,3 мг/л, 0,03 мг/л, 0,003 мг/л і розливають їх у хімічні склянки по 4 мл у кожен. В контрольні склянки наливають по 4 мл дистильованої води. Дослід проводять у двох-трьох повторностях, тобто для кожного варіанта готують 2 - 3 склянки. На дно склянок можна покласти шматочок фільтрувального паперу. Склянки накривають поліетиленовою плівкою щоб уникнути випару розчинів.

Відібрані проростки гороху розрізають навпіл так, щоб зріз проходив поперек сім'ядоль. Корінець підрізають, залишаючи ділянку в підстави кореня довжиною 5 мм. П'ять половинок сім'ядоль із залишком корінця й наклюнувшейся брунькою поміщають зрізом униз на дно склянки з випробуваним розчином. Кожну склянку закривають поліетиленовою плівкою, яку закріплюють кільцевою гумкою, і ставлять у термостат при температурі 26°С. На четверту добу для обліку ростової реакції епікотиль зрізують у основи й вимірюють його довжину. Сім'ядолі й корінець відкидають. Результати заносять у таблицю.

Таблиця - Дія гібереліну на ріст карликового гороху

Варіант дослідження	Довжина епікотіля, мм	Середня довжина епікотіля, мм	Приріст, % до контролю
Контроль (вода)			
Гіберелін, мг/л:			
30			
3,0			
0,3			
0,03			
0,003			

Завдання: побудувати криву залежності приросту карликового гороху від концентрації гібереліну. Зробити висновки про дію гіббереліну на ріст рослин карликового сорту гороху.

РОБОТА № 4

Пошкодження бруньок як спосіб ранньої вигонки рослин

Фізичне пошкодження сильно впливає на розпускання бруньок. Одним з непоганих і демонстраційних способів такого впливу є наколювання бруньок.

Метод ін'єкції води дає ще кращі результати. Якщо таким же чином її ввести за допомогою шприца, то можна спостерігати, як ін'єктована крапелька води продавиться крізь всю бруньку і повисне на її кінчику.

Головна роль, очевидно, при цьому належить пораненню, вода ж посилює дію цього методу.

При уприскуванні замість води слабого розчину алкоголю або ефіру вигнання значно прискорюється. Бруньки гілок акації, тополі, винограду, ін'єктовані таким чином, зацвітають на 15-30 днів раніше контролю.

Мета роботи: прослідити вплив фізичного пошкодження та водної ін'єкції бруньок на прискорення їх розпускання.

Матеріали і обладнання: 1) гілки рослин - бузку, форзиції, ліщини, каштана і спіреї; 2) розчин алкоголю - 5-10%; 3) 0,1% ефіри; 4) препарувальна голка; 5) банки або широкогорлі бутлі.

Порядок виконання роботи

Рослину уколоти голкою, як правило, біля основи бруньки, так глибоко, щоб кінчик голки доходив до її середини. Вколена таким чином брунька починає швидко рости. Гілки рослин з пораненими бруньками ставимо в теплу оранжерею, і вони швидко ростуть.

До інших зразків рослин за допомогою шприца ввести до бруньки теплу воду, таким чином, щоб ін'єктована крапелька води продавилася крізь всю бруньку і повисла на її кінчику.

Завдання: зробити висновок про вплив поранення бруньок на

вихід гілок деревних рослин із спокою як спосіб ранньої вигнала рослин.

РОБОТА № 5 **Скарифікація насіння**

У ряді випадків спокій і непроростання насіння залежить від слабого проникнення покривів для води. Для прискорення проростання твердого насіння з метою руйнування насінних покривів або підвищення проникності шкірки насіння застосовують різні методи його механічної обробки, хімічні (обробка сірчаною або іншими кислотами) або фізичні (обшпарювання, прогрівання). Пошкодження покривів насіння для прискорення проростання насіння називають *скарифікацією*.

Мета роботи: провести скарифікацію зразків насіння, що знаходиться в стані спокою та порівняти ефективність методів скарифікації насіння.

Матеріали і обладнання: насіння гледичії; сірчана кислота; кипляча вода; чашки Петрі; фільтрувальний папір.

Порядок виконання роботи

Для досліду беруть по 10 насіння гледичії на кожний варіант. Варіанти досліду: 1) непошкоджене насіння; 2) насіння з пошкодженою шкіркою; 3) насіння, яке занурюють на 10 с в киплячу воду; 4) насіння, яке обробляють протягом 30 хв концентрованою сірчаною кислотою, а потім ретельно відмивають водою; 5) насіння, яке протягом 30 хв струшують.

Після впливу перерахованих чинників насіння пророщують в чашках Петрі на вологому фільтрувальному папері у вологій камері. Через 5, 7, 14 днів обчислюють кількість насіння, яке проросло.

Завдання: в кінці досліду кількість насіння, яка проросло у варіантах, виражають у відсотках до кількості пророслого в контролі. Роблять висновок про вплив різних методів пошкодження шкірки насіння на його проростання.

РОБОТА № 6

Тропізми рослин

Тропізми - ростові рухи (вигини) органу рослин, які виникають під дією односторонніх фізичних, хімічних і інших подразників. Тропізми точно орієнтовані по відношенню до напрямку дії подразників.

Розрізняють такі види тропізмів: фототропізм, викликаний одностороннім освітленням; геотропізм, який виявляється під дією сили земного тяжіння, і відповідно з іншими подразниками - *гідро-, аеро-, хемо-, травмо-, електро- і магнітотропізм*.

Поява тропізмів залежить не тільки від подразника, але і від життєдіяльності рослини (фізіологічного стану органів і концентрацій фітогормонів в них). Порушення життєдіяльності рослини ослаблює реакції на подразнення, порушує його тропізми.

Дослід 1. Дослідження геотропізму

Властивість органів рослини займати певне положення по відношенню до центру Землі називають геотропізмом. Для коренів властивий позитивний геотропізм. Завдяки цьому при проростанні насіння вони завжди занурюються в ґрунт. Стебло має негативний геотропізм. Завдяки негативному геотропізму різні рослини при виляганні під впливом будь-якої механічної сили (вітру, дощу, граду) через деякий час підіймаються. Таке явище надзвичайно цінне для збереження врожаю. Воно можливе завдяки своєрідній будові стебла злаків (соломини), у вузлах якого (або над вузлом) тривалий час зберігається меристематична тканина, і тому може утворитися згин і рослина підіймається.

Геотропічні вигини, як і взагалі все тропізми, відбуваються лише в ростучих частинах стебла або кореня. Стебло або корінь прагнуть зайняти вертикальне положення щодо центру Землі. Таке положення називають *ортотропним*, а ці органи ортотропними. Проте не всі гілки і не всі корені характеризуються строго ортотропним положенням. Багато хто з них розташований під певним кутом до вертикальної осі. При цьому ті, що розташовуються під прямим кутом до неї, називають *діатропними*, а ті, що розташовані під тупим або гострим кутом - *плагіотропними*. Листя, бічні гілки і корінці займають одне з цих двох положень.

Геотропізм - важлива властивість рослин, яка виробилася в них в процесі історичного розвитку на самих ранніх етапах еволюції. Вже деяким водоростям властивий геотропізм.

Мета роботи: спостерігати за явищем геотропізму коренів та пагонів рослин

Матеріали і обладнання: насіння льону; відрізок скла для закриття банки; скляна пластинка, яка легко входить в банку; темний м'який обгортувальний папір; банки.

Порядок виконання роботи

Обгорнути скляну пластину папером і прикріпити до неї коренями вниз 5-8 насінин, які вже почали проростати. Поставити її вертикально в банці, на дно якої налити небагато води. Банку зверху закрити склом. Коли корінці виростуть на 5-10 мм, пластинку з насінням повернути на 90°, а на другий день на 180°. Спостерігати геотропічні вигини коренів, а потім і стебел.

Завдання: зробити висновок про вплив земного тяжіння на ріст коренів.

Дослід 2. Дослідження гідротропізму

Для коренів властивий гідротропізм. З його допомогою вони завжди ростуть у напрямку до більш зволоженої ділянки ґрунту. Гідротропічна чутливість рослин, як і геотропічна, зосереджена на кінці кореня.

Мета роботи: спостерігати за явищем гідротропізму коренів у пророслого насіння.

Матеріали і обладнання: насіння льону або гірчиці; скляні пластинки; шматок скла, не набагато більший отвори банки; фільтрувальний папір; банки.

Порядок виконання роботи

В обидві банки наливають воду завтовшки приблизно 5 см, скляні пластинки обертають фільтрувальним папером, зволожують його і на одній із сторін розкладають в рядах сухе насіння льону або гірчиці. Стикаючись з вологою, насіння змочується і прилипає до паперу. Пластинку ставлять похило в банку, так, щоб насіння опинилось на нижній стороні пластинки. Одну банку накривають шматком скла, іншу залишають відкритою. Обидві банки ставлять в темне місце. В першій банці, де вологість рівномірна, корені будуть направлені вертикально до поверхні води по напрямку сили земного тяжіння. У

відкритій банці, в якій верхні пласти повітря менш вологі, корені ростуть у напрямку до більшої вологості і стеляться по вологому фільтрувальному паперу.

Завдання: зробити висновки про причину росту кореня у певному напрямку.

Контрольні питання до теми «Фізіологія росту та розвитку рослин».

1. Дайте визначення понять ріст і розвиток. Яке взаємовідношення цих двох процесів? Наведіть приклади.
2. Назвіть етапи життєвого циклу вищих рослин і особливості проходження їх рослинним організмом.
3. Поясніть, як відбувається проростання, первинний і вторинний ріст рослин. Які особливості первинного росту пагона і кореня.
4. Що таке адвентивний ріст? Які структури називають адвентивними?
5. Назвіть типи росту. Що зумовлює різноманітність типів росту?
6. Як змінюється швидкість росту з часом? Схарактеризуйте сигмоїдну криву росту.
7. Що таке корелятивний ріст?
8. Поясніть, що таке періодичність росту, циркадна ритміка, біологічний годинник.
9. У чому суть фізіологічної функції явища спокою? Назвіть типи спокою та чим вони зумовлені.
10. Дайте визначення регенерації рослин.
11. Поясніть явище полярності у рослин.
12. Що таке фотоперіодизм? Яке значення фотоперіоду в регуляції росту і розвитку рослин? У чому полягає функція фітохрому?
13. Наведіть приклади рослин довгого дня, короткого та нейтральні групи.
14. Чим зумовлене зниження вмісту фітохрому в темряві?

15. Назвіть імовірні механізми дії фітохрому.
16. Поясніть залежність переходу рослин до цвітіння від співвідношення довжини дня і ночі впродовж доби.
17. Що зумовлює перехід рослин до цвітіння?
18. Яке значення для життєдіяльності рослин мають рухи рослин?
19. Назвіть основні положення гормональної теорії тропізмів.
20. Що таке настичні рухи рослин? Поясніть ймовірні механізми настій.
21. Схарактеризуйте ендогенні рухи рослин.
22. Наведіть приклади вільного пересування рослин та його механізми.
23. Що таке таксиси?
24. Наведіть приклади внутрішньоклітинних рухів, поясніть їх механізми.

25. Назвіть системи регуляції морфогенезу рослин на рівні клітини і цілого організму.
26. Схарактеризуйте метаболітичну, мембранну та генетичну систему регуляції.
27. Назвіть особливості трофічної регуляції.
28. Яке значення гормональної системи регуляції для багатоклітинних рослинних організмів?
29. Що таке фітогормони? Які є фітогормони? Чи є чітка межа між гормонами, які стимулюють чи гальмують ріст?
30. Який вклад у розвиток фітогормонології вніс М. Г. Холодний?
31. Поясніть хімічну природу фітогормонів. Які типи гормонів мають подібні етапи в процесі їхнього біосинтезу? Яке це має фізіологічне значення?
32. Назвіть основні прояви фізіологічної дії ауксинів, гіберелінів, цитокінінів, а також абсцизової кислоти та етилену.
33. Як відбувається пересування ауксинів?
34. Чому в процесі еволюції сформувалась закономірність, згідно з якою процеси морфогенезу регулюються не одним гормоном, а їх співвідношенням?
35. Як здійснюється інтеграція регуляторних механізмів на рівні цілісної рослини?

Тестові завдання до теми «Фізіологія росту та розвитку рослин».

1. Індивідуальний розвиток організму, вся сукупність його перетворень від зародження до природного відмирання називається:
1) онтогенез 2) ріст 3) розвиток 4) морфогенез

2. Інтеркалярний ріст властивий:
1) стеблам бобових 3) листкам злакових
2) стеблам злакових 4) листкам бобових

3. Який з фітогормонів відносять до інгібіторів росту:
1) ауксин 3) гіберелін
2) абсцизова кислота 4) цитокінін

4. У якій формі знаходиться фітохром при поглинанні червоного світла:
1) Фітохром червоний 3) фітохром нативний
2) фітохром дальній червоний 4) фітохром модифікований
5. Рослини короткого дня зацвітають лише при:
1) скороченні світлового дня 3) рівній тривалості дні й ночі
2) збільшенні світлового дня 4) повній відсутності світла

6. Незворотне збільшення розмірів рослин, що зумовлене новоутворенням органів, клітин та окремих елементів за рахунок біосинтетичних процесів називається:
1) онтогенез 2) ріст 3) розвиток 4) морфогенез

7. Який з етапів розвитку рослини характеризується проростанням насіння і утворенням вегетативних органів:
1) ювенільний 3) репродуктивний
2) ембріональний 4) сенільний

8. Який з фітогормонів регулює процес відкриття-закриття продихів:
1) ауксин 3) гіберелін
2) цитокінін 4) абсцизова кислота

9. Для деяких сільськогосподарських культур цвітіння стає можливим лише після дії понижених температур. Це явище називають :
1) стан спокою 3) етіоляція
2) яровизація 4) загартування

18. Причиною вимушеного спокою рослин є:

- 1) фізіолого-біохімічні особливості зародку
- 2) несприятливі фактори навколишнього середовища
- 3) дія інгібіторів росту
- 4) механічні перешкоди для проростання

19. Один з методів виходу насіння із стану спокою є скарифікація. Це

- :

- 1) дія понижених позитивних температур
- 2) замочування насіння
- 3) механічне руйнування водонепроникних покривів насіння
- 4) витримка насіння на світлі

20. Згідно до теорії Холодного-Вента у горизонтально розташованому паростку накопичення фітогормонів відбувається на:

- 1) нижньому боці
- 2) верхньому боці
- 3) рівномірно розподілені

21. Вигін стебла під впливом ауксинів відбувається в результаті

- 1) ослаблення росту клітин
- 2) плазмолізу
- 3) посилення розподілу клітин
- 4) посилення росту клітин

22. Пригнічення росту бічних бруньок на користь апікальної меристеми називається:

- 1) верхнім кінцевим двигуном
- 2) ростом розтяганням
- 3) апікальним домінуванням
- 4) диференцировкою

ТЕМА: СТІЙКІСТЬ РОСЛИН



РОБОТА № 1

Кріопротекторна дія цукрів на протоплазму

При впливі негативних температур на рослинні тканини в міжклітинках утворюється лід, який відтягує воду із клітин та збезводнює протоплазму. При певному ступені зневоднювання, індивідуальної для кожного організму, протоплазма коагулює.

Кристали льоду, що утворюються безпосередньо в клітинах, механічно впливають, у результаті порушується внутрішня структура протоплазми, різко підвищується її проникність, а при тривалій експозиції на морозі настає відмирання. Швидкість відмирання протоплазми клітин залежить як від температури й часу експозиції, так і від водоутримуючої здатності самої клітини. Збільшення кількості розчинних цукрів у зимуючих органах рослин підвищує водоутримуючу здатність тканин. Сахара захищають білкові сполуки від коагуляції при проморожуванні.

Мета роботи: з'ясувати особливості впливу сахарози різних концентрацій на протоплазму при дії низьких температур.

Матеріали й устаткування. Коренеплоди буряка, 0,5 і 1 М розчини сахарози, поварена сіль, лід колотий або сніг. Термометр, ніж, пробочні свердла діаметром 6 мм, леза, пробірки, мікроскопи,

предметні й покривні стекла, пензлики, олівці по склу, фільтрувальний папір, лопатка для охолоджувальної суміші, склянка.

Порядок виконання роботи.

З поперечного зрізу столового буряка товщиною 0,5 см за допомогою пробочного свердла діаметром 5-6 мм зробити висічки. Ретельно промити їх під водопровідною водою й помістити у три пробірки по три висічки в кожну. У першу пробірку налити 5 мл дистильованої води, у другу — 0,5мл 0,5 М розчину сахарози, у третю — 0,5мл 1 М розчину сахарози. Пробірки етикетувати і на 20 хв занурити в охолоджувальну суміш, що складається із трьох частин льоду або снігу й однієї частини повареної солі. Потім пробірки вийняти із охолоджувальної суміші й разморозити у склянці води кімнатної температури. Після відтавання пробірки струсити. Відзначити різницю в інтенсивності забарвлення рідини в пробірках і пояснити.

З аналізованих висічок приготувати тонкі зрізи й розглядати їх під мікроскопом при малому збільшенні в краплі розчину, у якому вони перебували. Підраховувати загальне число клітин у полі зору й число знебарвлених клітин, з яких вийшов антоціан.

Результати досліду записати у таблицю за наведеною формою.

Таблиця - Визначення захисної дії цукрів на протоплазму

Умови, варіант	Число клітин у полі мікроскопу		Відношення числа забарвлених клітин до загального числа, %	Висновок
	усього	забарвлених		
Вода				
0,5 М р-н сахарози				
1 М р-н сахарози				

Завдання. Записати дослід, відзначити при якій з досліджуваних концентрацій сахароза захищає протоплазму клітин від дії низьких температур.

РОБОТА № 2

Визначення жаростійкості рослин (за Мацковим)

Стійкість рослин — це їх здатність адаптуватися до несприятливої дії зовнішнього середовища, зберігаючи стабільність всіх фізіологічних процесів. Чим менше відхилення якого-небудь процесу або реакції від норми в результаті дії екстремального чинника і чим швидше вони повертаються до норми, тим вище стійкість рослин. Механізми досягнення стійкості у них різні і можуть відбуватися як на генетичному, так і на фізіолого-біохімічному і морфологічному рівнях.

При стресовому впливі на тканині, наприклад при підвищенні температури, мембрани клітини, у тому числі і мембрани хлоропластів, втрачають властивість напівпроникності. Внаслідок цього іони водню, присутні в клітині, заміщають іон Mg в молекулі хлорофілу, який перетворюється у феофітин, що має бурий колір. Чим більше хлорофілоносних клітин пошкоджено, тим більша площа листа буріє.

Мета роботи: порівняти рівень жаростійкості рослин різних екологічних груп.

Матеріали і обладнання: водяна лазня; плитка; термометр; чашки Петрі; біла пластикова пластина; 0,2 М розчин HCl; рослини різних екологічних груп (огірки, полин, кульбаба, кислиця, лобода і ін.); листя різних ярусів.

Порядок виконання роботи

У водяній лазні підтримують температуру 40 °С. У воду опускають листя рослин, узятих для дослідів. Заздалегідь до їх черешків прикріплюють етикетки з вказівкою максимальної температури, при якій це листя витримуватиметься. Першу пробу витягують з лазні через 30 мін і тимчасово переносять в чашки Петрі з водою кімнатної температури. Потім температуру в лазні піднімають на 5 °С.

Через 10 хв з неї витягують другу пробу листя, їх також переносять в кристалізатор з водою. Поступово температуру води в лазні доводять до 60°С, забираючи проби кожні 10 хв після збільшення температури в лазні на кожні 5 °С. Потім листя витягують з води кімнатної температури і заливають розчином 0,2М HCl, в якому листя набуває буре забарвлення (якщо у рослин клітинний сік кислий, то листя буріє вже у воді).

Час перебування в кислоті повинен бути однаковим для всього

листя.

Через 10-20 хв листя витягують з розчину соляної кислоти, переносять у воду, промивають і розкладають на білій пластиковій пластині в порядку збільшення площі бурого забарвлення.

Результати записують в таблицю, позначивши відсутність побуріння знаком «-»; незначне побуріння – «+»; побуріння понад 50% площі листка – «++»; повне побуріння – «+++».

Таблиця – Ступень пошкодження листків за дії температури

Об'єкт	Ступень пошкодження листків при t, °C				
	40	50	60	70	80
1.					
2.					
3.					

Завдання: порівняти ступінь пошкодження листя при різній температурі у різних рослин. Листя замалювати і розфарбувати пошкоджені ділянки.

РОБОТА № 3

Визначення посухостійкості рослин пророщенням насіння на розчинах сахарози.

Здатність рослин на перших етапах розвитку мінімально використовувати вологу в умовах недостатнього водопостачання служить одним з важливих біологічних і господарсько корисних ознак сорту. Визначаючи кількість пророслих насін'я на розчинах з високим осмотичним тиском, що імітує умови фізіологічної сухості ґрунту, представляється можливим встановити на ранніх етапах онтогенезу відносну посухостійкість видів і сортів.

Мета роботи: імітувати умови фізіологічної сухості ґрунту за допомогою розчинів сахарози з різними осмотичним тиском та з'ясувати посухостійкість насіння за ступенем його проростання.

Матеріали і обладнання: Насіння пшениці, вівса, проса, гороху, вікі, кукурудзи, ячменя, 15, 20, 25%-ні розчини сахарози з осмотичним

тиском відповідно 1000, 1400, 1800 кПа. Чашки Петрі, фільтрувальний папір, термостат, лінійки.

Порядок виконання роботи

У чашках Петрі на фільтрувальному папері проростити по 50 насін'я у трьох повторностях. Фільтрувальний папір змочити розчином сахарози з осмотичним тиском 1000, 1400 і 1800 кПа. Підрахунок пророслих насін'я просести на третій день. Чим стійкіше сортозразок, тим вище кількість пророслих насін'я на більших концентраціях сахарози, тим більше довжина корінців і проростків.

Результати досліду записати у таблицю за наведеною формою.

Таблиця - Визначення посухостійкості рослин

Варіант досліду	Число насін'я, пророслих на 3-й день	Число насін'я, що проросли на 7-й день	Висновок

Завдання: записати дослід та зробити висновок про посухостійкість досліджуваного насіння.

РОБОТА № 4

Визначення посухостійкості рослин методом крохмальної проби

Посухостійкі рослини зберігають більше високу синтетичну здатність при дії посухи й містять більше крохмалю, чим рослини з низькою стійкістю. Пул крохмалю має велике значення в процесах репарації.

Мета роботи: визначити посухостійкість рослин методом крохмальної проби.

Матеріали і обладнання: Листи рослин, що розрізняються за посухостійкістю, спирт, розчин Люголя. Мікроскоп, чашки Петрі, ексикатори, термостат, ножиці, пінцет, хімічна склянка, секундомір.

Порядок виконання роботи

Визначення проводять на листах картоплі, проса, соняшника. У дослідах порівнюють партії рослин одного виду, з різною обробкою, що змінила їхню посухостійкість.

У сонячну погоду в 11—12 год. дня, коли в листах накопичується значна кількість крохмалю, зірвати із дослідних рослин 5 — 20 листів одного ярусу й залишити їх у тіні на 2—3 години. Потім кожний лист або його частину (4-5 см) знебарвити спиртом і визначити вміст крохмалю за допомогою розчину Люголя. Чим більше утвориться крохмалю, тим посухостійкіший сорт. Результати (середнє арифметичне) виражають у балах: 1 - крохмалю ні, 2 - крохмаль є, 3 - крохмалю багато. Результати досліду записати у таблицю за наведеною формою.

Таблиця - Посухостійкість рослин залежно від кількості крохмалю в листах

Варіант досліду	Кількість крохмалю, бали	Висновок

Завдання. Записати дослід та зробити висновок про посухостійкість різних видів рослин.

РОБОТА № 5

Визначення солестійкості злаків за схожістю їх насіння.

В умовах надмірного засолення ґрунту схожість насіння й інтенсивність росту рослин часто знижуються. При визначенні солестійкості показником стійкості служить порівняння числа пророслого насіння в розчинах солі та в дистильованій воді.

Мета роботи: визначити солестійкість злаків.

Матеріали і обладнання: чашки Петрі, фільтрувальний папір, розчин формаліну (1 мл формаліну на 300 мл води), хімічні стакани, марлеві мішечки, етикетки, термостат, сушильна шафа, піпетки на 10

мл, розчин NaCl, дистильована вода. Рослини: насіння ячменю, кукурудза і ін.

Порядок виконання роботи

Відбирають здорове насіння рослин, поміщають їх в різні марлеві мішечки з етикеткою всередині і обробляють розчином формаліну протягом 3 - 5 мин. Потім злегка просушують і розкладають по 10 - 20 зернят в кожную чашку Петрі. Заздалегідь чашки Петрі прожарюють в сушильній шафі при 150 С протягом 1 год, на їх дно укладають фільтрувальний папір. У кожную чашку наливають по 10 мл 7 %- або 10 % розчин NaCl і 10 мл дистильованої води (контроль). Дослід проводять в триразовій повторності.

Чашки Петрі з насінням поміщають в термостат при температурі 26 С для пророщування. На дно термостата ставлять кювету з водою. Через сім днів в кожному варіанті підраховують число пророслого насіння. Визначають відсоток схожості. Результати записують в таблицю.

Таблиця - Схожість насіння злаків залежно від засолення ґрунту

Рослина	Варіант дослідів	Число пророслого насіння	Схожість, %
Ячмінь	H ₂ O		
	NaCl, %		
Кукурудза	H ₂ O		
	NaCl, %		

Завдання. зробити висновок про солестійкість рослин.

Контрольні питання до теми «Стійкість рослин»

1. Види адаптації рослин (фізіологічна і генетична).
2. Поняття про стрес. Причини його виникнення та стадії розвитку.
3. Межі пристосування та стійкості рослин.
4. Зворотні та незворотні ушкодження рослин.
5. Реакція рослинних клітин, тканин при ушкодженні в процесі адаптації.
6. Фізіолого-біохімічні зміни у рослинах при дії низьких позитивних температур, пристосування до них.
7. Класифікація рослин за холодостійкістю.
8. Шляхи підвищення холодостійкості рослин.
9. Процеси, що відбуваються в рослинних клітинах при заморожуванні.
10. Підвищення морозостійкості рослин. Загартування, його фази.
11. Зимостійкість рослин (випрівання, вимокання, випирання, зимова посуха).
12. Методи визначення життєздатності сільськогосподарських культур у зимовий та ранньовесняний період.
13. Назвіть групи рослин за жаростійкістю.
14. Поясніть зміни обміну речовин за дії максимальних температур.
15. Засоби підвищення жаростійкості рослин.
16. Посухостійкість, види посухи.
17. Пристосування різних ксерофітних форм і мезофітних рослин до низького водного потенціалу.
18. Фізіологічні особливості посухостійкості сільськогосподарських рослин.
19. Назвіть методи діагностики жаро- та посухостійкості рослин.
20. Підвищення посухостійкості культурних рослин.
21. Солестійкість рослин.
22. Класифікація рослин за концентрацією солевих розчинів.
23. Специфічна реакція рослин на підвищену концентрацію фунтового розчину.
24. Діагностика солестійкості сільськогосподарських рослин.
25. Можливості та шляхи підвищення солестійкості сільськогосподарських рослин.

Тестові завдання до теми «Стійкість рослин»

1. Здатність рослин витримувати високі позитивні температури називається :

- 1)холодостійкість 3)зимостійкість
- 2)морозостійкість 4)жаростійкість

2. При дії холоду в клітинах відбувається :

- 1)втрата тургору та порушення транспорту води
- 2)зниження в'язкості цитоплазми
- 3)інтенсифікація фотосинтезу
- 4)активний синтез ДНК

3. Морозостійки рослини мають пристосувальну реакцію, яка виявляється у:

- 1)зростанні концентрації цукрі 3)зростанні концентрації нуклеїнових кислот
- 2)зниженні концентрації цукрів 4)зниженні концентрації нуклеїнових кислот

4. Який з механізмів не підвищує стійкість рослин до дії високих температур:

- 1)інтенсивна транспірація
- 2)зміна положення листа відносно напрямку сонячних променів
- 3)підсилення дихання
- 4)зростання вмісту вуглеводів

5. В умовах посухи підсилюється синтез:

- 1)гіберелінів 3)абсцизової кислоти
- 2)ауксинів 4)цитокінінів

6. Які речовини, що виконують захисну хімічну дію на цитоплазму, знаходяться в зимуючих органах рослин?

- 1) моноцукри і білки;
- 2) мінеральні солі і вода;
- 3) ліпіди і нуклеїнові кислоти.

7. Які причини загибелі рослин при низьких від'ємних температурах?

- 1) від'ємні температури викликають коагуляцію білків цитоплазми;
- 2) замерзаючий клітинний сік розширюється в об'ємі і розриває

судини і клітини рослин;

3) кристали льоду, що утворюються в міжклітинниках, викликають механічне пошкодження цитоплазми.

8. Вкажіть ознаки, характерні для першої фази загартування рослин до дії морозів:

1) залежить від змін фізіолого-біохімічних властивостей цитоплазми, її зневоднення;

2) відбувається при від'ємній температурі, світло не потрібне;

3) відбувається на світлі і пов'язана з нагромадженням цукрів.

9. Які ознаки відрізняють галофітів від глікофітів?

1) низька інтенсивність транспірації;

2) висока продуктивність;

3) інтенсивний ріст.

10. Які причини шкідливого впливу солей на рослину?

1) порушується структура клітинних органел і цитоплазми;

2) змінюється енергетичний обмін;

3) низький водний потенціал ґрунтового розчину утруднює поступання води в рослину.

11. На які екологічні групи поділяються гомойогідричні рослини?

1) гідрофіти, мезофіти, ксерофіти;

2) сукуленти, несуккулентні види, ефемери;

3) гідратофіти, наземні рослини.

12. Вищі солестійкі рослини пристосовані до росту на засолених ґрунтах за рахунок здатності:

1) функціонувати в умовах підвищеного вмісту іонів у цитоплазмі

2) підтримувати низький зміст іонів у цитоплазмі

3) добувати воду із глибинних шарів, що не зазнають засоленню

13. Стійкість рослини до стресового впливу залежить:

1) від фази онтогенезу;

2) не залежить від фази онтогенезу;

3) не залежить від приналежності рослин до різних таксонів, екогруп і життєвим формам;

4) залежить від приналежності рослин до таксономічних одиниць, екогруп і життєвим формам.

14. Найбільш стійкі до стресового впливу:

- 1) рослини в молодому віці;
- 2) рослини, що знаходяться в стані спокою;
- 3) рослини, що знаходяться в період формування гамет;
- 4) рослини, що знаходяться в період активного росту.

15. Основні способи захисту рослин від посухи:

- 1) запобігання втрати води, перенесення висихання, уникнення періоду посухи;
- 2) уникнення періоду посухи;
- 3) перенесення висихання;
- 4) запобігання втрати води.

16. При зневодненні у рослин, не пристосованих до посухи, посилюється:

- 1) інтенсивність дихання, а потім поступово знижується;
- 2) істотних змін дихання не спостерігається;
- 3) мезоморфну структура листя;
- 4) знижується в'язкість протоплазми.

17. В умовах водного стресу фотосинтез протікає по шляху:

- 1) C_3 -шлях фотосинтезу;
- 2) C_4 -шлях фотосинтезу;
- 3) САМ-метаболізують;
- 4) C_3 і C_4 шляху фотосинтезу.

18. Закон В.Р.Заленського свідчить, що чим вище на стеблы розташований лист, тим більш виражена у нього:

- 1) гігоморфна структура;
- 2) гігро-мезоморфна структура;
- 3) мезоморфна структура;
- 4) ксероморфна структура.

19. Рослини, які погано переносять зневоднення:

- 1) сукуленти;
- 2) евскерофіти (справжні ксерофіти);
- 3) геміксерофіти (полуксерофіти);
- 4) пойкилоксерофіти.

20. До нестачі води листя адаптуються:

- 1) шляхом посилення мезоморфної структури;
- 2) шляхом виникнення гігоморфної анатомічної структури;
- 3) шляхом виникнення ксероморфної структури;
- 4) шляхом заглиблення продихів в тканині листа, збільшення опушеності, утворення товстої кутикули, редукції листа та ін.

ТЕРМІНОЛОГІЧНИЙ СЛОВНИК

Адгезія — сила прилипання молекул води до клітинних стінок судин.

Амінокислоти – похідні карбонових кислот, у яких один із атомів Гідрогену карбонового ланцюга заміщений на аміногрупу ($-\text{NH}_2$).

Антоціан — водорозчинний червоний або синій пігмент клітинного соку.

Апопласт — єдина транспортна система, по якій здійснюється транспорт води та розчинених речовин по рослині.

Апофермент - білкова частина двокомпонентних ферментів

Білки – азотовмісні високомолекулярні органічні сполуки (полімери), які складаються із α -амінокислот (мономери), що послідовно сполучені між собою пептидними зв'язками.

Біосфера — зона атмосфери, суші і води, заселена організмами.

Вакуоля — простір у цитоплазмі, що заповнений водянистою рідиною, клітинним соком та оточений мембраною.

Відновлення — приєднання електрона атомом (відбувається одночасно з окисненням: один атом віддає електрон, другий — захоплює).

Відносна транспірація — відношення інтенсивності транспірації з одиниці площі листка до інтенсивності випаровування води з такої самої площі вільної водної поверхні за одиницю часу.

Водневий зв'язок — слабкий зв'язок між атомами водню, ковалентно зв'язаного з атомом кисню або азоту та іншим атомом з останніх двох елементів.

Ієн — одиниця спадковості рослинного організму, за допомогою якої відбувається кодування та передача генетичної інформації в ряді поколінь.

Ізоелектрична точка білка (ІЕТ) – значення рН середовища, при якому білок не несе сумарного заряду, тобто число негативних зарядів зрівнюється з числом позитивних зарядів.

Гіпертонічний розчин — розчин, який має концентрацію вищу, ніж клітинний сік.

Гіпотонічний розчин — розчин, концентрація якого нижча, ніж має клітинний сік.

Гідролази - ферменти, які каталізують реакції гідролізу.

Гідроліз — розщеплення молекули за рахунок приєднання води.

Гліколіз — ланцюг реакцій, в результаті яких глюкоза перетворюється на піруват (з утворенням АТФ).

Гутація — явище виділення крапель рідини на листках рослин.
Денатурація — під дією різних фізичних і хімічних факторів порушується природна просторова структура білкової молекули: руйнуються четвертинна, третинна і вторинна структури (первинна не змінюється). Це призводить до зменшення або повної втрати розчинності, специфічної біологічної активності, зміни оптичних властивостей, в'язкості та ін. При денатурації розриваються йонні, водневі і дисульфідні зв'язки, поліпептидний ланцюг розкручується і знаходиться або в розгорнутому стані, або у вигляді хаотичного клубка.

Деплазмоліз — процес повернення клітини до нормального осмотичного стану у гіпотонічному розчині

Дихальний коефіцієнт — відношення кількості виділеного при диханні CO_2 до кількості поглинутого O_2 , молях.

Дихання — біохімічний процес, в результаті якого в органах рослини окислюються та розкладаються органічні сполуки за участю кисню з виділенням енергії.

Ендодерма — шар клітин, що охоплює провідний циліндр у коренях та деяких стеблах.

Епідерма — зовнішній шар клітин (первинний за походженням) листків, стебел, коренів.

Замикаючі клітини — дві спеціалізовані епідермальні клітини продихового апарата.

Ізомерази - ферменти, які каталізують реакції ізомеризації.

Ізотонічний розчин — розчин, концентрація якого рівна концентрації клітинного соку

Інтенсивність дихання — основний показник окислення субстратів, що визначають по кількості вуглекислого газу, що виділяє рослина або по кількості кисню, що поглинає.

Інтенсивність транспірації — величина, що показує, яку кількість води в грамах випаровує рослина на 1 м^2 або 1 см^2 листової поверхні за 1 годину.

Інтенсивність фотосинтезу — кількість CO_2 , засвоєного одиницею поверхні листка за одиницю часу.

Інфільтрація — проникність (просочування) хімічних речовин крізь відкриті продихи.

Каротиноїди — клас пігментів (жиророзчинних): жовті, оранжеві, червоні каротини та жовті ксантофіли. Це допоміжні пігменти процесу фотосинтезу. Містяться в хромопластах та хлоропластах рослин.

Клітинний сік — рідкий вміст вакуолей.

Когезія — сила взаємного зчеплення молекул води, що забезпечує безперервність водяних ниток в судинах та трахеїдах.

Кореневий тиск — сила, яка спричиняє в рослині від кореневої системи односторонній потік води з розчиненими в ній речовинами, незалежно від транспірації.

Ксилема — тканина, по якій транспортуються мінеральні речовини та вода в рослині. Має трахеальні елементи.

Кофермент - небілкова частина ферменту, яка легко розпадається із комплексу з ферментним білком.

Ліази - ферменти, які каталізують реакції негідролітичного відщеплення певних груп від субстрату з утворенням подвійних зв'язків або, навпаки, приєднання цих груп за місцем подвійних зв'язків.

Лігази - ферменти, які каталізують синтез складних органічних сполук із більш простих за рахунок енергії розщеплення АТФ та інших трифосфатнуклеотидів.

Ліпіди – група різноманітних за складом нерозчинних у воді органічних речовин, які відрізняються розчинністю в органічних розчинниках. Вони є похідними вищих жирних кислот та спиртів.

Макроелементи — основні неорганічні хімічні елементи, що необхідні рослині для росту та розвитку (К, N, Ca, P, Mg, S).

Мембрани — система динамічних спеціалізованих структур, які забезпечують компартментацію розмежування клітин та окремих органел, створюючи умови для нормального проходження метаболічних процесів.

Меристема — недиференційована рослинна тканина, з якої розвиваються нові клітини.

Мітохондрії — основна енергетична підстанція клітини, де в процесі дихання розщеплюються органічні молекули, вивільнюється енергія і запасується у формі АТФ, що забезпечує рослинну клітину енергією життєдіяльності в доступній формі.

Моносахариди – сполуки, що містять одночасно гідроксильні і карбонільні групи. Залежно від характеру карбонільної групи поділяються на альдози (оксиальдегіди) і кетози (оксикетони).

Оксидоредуктази - ферменти, які каталізують окислювально-відновні процеси в живих клітинах організму.

Органела — спеціалізована частина клітини.

Осмо́с — дифузія розчинника або води крізь напівпроникну мембрану.

Осмотичний тиск — це тиск розчину на напівпроникну перетинку, яка відокремлює його від розчинника, або від розчину з меншою

концентрацією. Осмотичний тиск тим вищий, чим концентрованіший розчин.

Первинна оболонка — шар оболонки, що формується в період росту клітин.

Пігмент — речовина, що вибірково поглинає світло.

Плазмоліз — відокремлення протопласта від оболонки рослинної клітини, в результаті втрати ним води за рахунок осмосу.

Продихи — специфічні отвори в епідермі, крізь які відбувається газообмін. Розміщені переважно з нижнього боку листової пластинки, але у деяких рослин — з верхнього (капуста, злаки).

Протоплазма — цитоплазма без органел.

Протопласт — у рослин клітина без оболонки.

Простетична група (кофактор) - небілкова частина ферменту, яка міцно зв'язана з ним і у циклі біохімічних реакцій не відщеплюється від нього.

Полісахариди – високомолекулярні вуглеводи, які складаються із великої кількості моносахаридів. Побудовані за принципом, що і олігосахариди, але тільки з великого числа молекул моносахаров. Вони не мають солодкого смаку, мають високу молекулярну вагу, нерозчинні у воді або утворюють колоїдні розчини.

Рідинно-мозаїчна модель — модель мембрани, згідно якої мембрана складається з подвійного шару ліпідів та занурених в нього білкових глобул.

Рибосома — частинка рослинної клітини, яка складається з білка і РНК (місце синтезу білка).

Сахароза - (буряковий або тростинний цукор) - дисахарид, який містить залишки α -D(+)-глюкози і β -D(-)-фруктози, аномерні центри яких з'єднані глікозидним зв'язком.

Симпласт — сукупність протопластів клітин рослинної тканини або органа.

Строма — основна речовина пластид.

Судини — трубчасті елементи ксилеми, що мають провідну функцію.

Тонoplast — цитоплазматична мембрана, що оточує вакуолю клітини.

Транспірація — процес випаровування води рослиною (продихова, кутикулярна).

Трансферази - ферменти, які каталізують перенесення певних функціональних груп з однієї органічної сполуки (донора) до іншої (акцептора).

Трахеїди — продовгувата товстостінна опорна і провідна клітина ксилеми з порами в оболонці.

Ферменти, або ензими - каталізатори білкової природи, які утворюються і функціонують у всіх живих організмах і мають здатність прискорювати перебіг хімічних реакцій в організмі.

Флоема — провідна тканина судинних рослинних організмів, по якій транспортуються органічні речовини. Складається з волокон, склереїд, різних паренхімних клітин та ситоподібних елементів.

Фотоліз води — розщеплення молекули води на кисень і водень (залежне від світла). Відбувається в ході світлових реакцій фотосинтезу в фотосистемі II.

Циторіз — явище, при якому плазмалема не відокремлюється від оболонки, в результаті чого клітина зморщується.

Целюлоза (клітковина) - полісахарид, побудований із залишків β -D-глюкози, зв'язаних між собою глікозидними зв'язками. Прикладом майже чистої целюлози є бавовняні волокна й папір, особливо фільтрувальний.

Ядро — спеціалізована частина еукаріотичної клітини, що містить хромосоми та відмежована подвійною мембраною. Має колоїдну структуру, передає генетичну інформацію від клітини до клітини.

ДОДАТКИ

ТЕХНІКА ЛАБОРАТОРНИХ РОБІТ

Вимоги до приміщення лабораторії та техніки безпеки.

У кожній лабораторії повинні бути засоби пожежогасіння та індивідуального захисту – вогнегасники, ємності з піском, асбестова ковдра, гумові чоботи та фартух, захисні окуляри, респіратори, гумові рукавички, дерев'яна жердина з гачком.

У лабораторії необхідні ємності (15-20 л) з поліетилену або інших антикорозійних матеріалів для зливу непотрібних, відпрацьованих реактивів. Ці ємності по мірі наповнення виносять у спеціальні сховища.

На видному місці повинна знаходитися аптечка з набором медикаментів і препаратів, таких як мазь від опіків, 3% розчин гідрокарбонату натрію (проти кислотних опіків), 1% розчин оцтової кислоти (від лужних опіків), етиловий спирт, настойка йоду, джгут, пластир, перев'язувальні засоби, вода, мензурка для крапель, нашатир, серцеві засоби.

У лабораторії неприпустимо скупчення великої кількості працюючих.

Перед початком циклу робіт у лабораторії студентам необхідно ознайомитися із загальними для всіх лабораторій правилами техніки безпеки та розписатися у журналі інструктажу.

Загальні правила роботи

1. Працювати ретельно, акуратно, без поспіху; дотримуватися тишини.
2. Не захарашувати робоче місце портфелями, згортками, сумками тощо. Для них відведено спеціальні місця.
3. Куріння, прийом їжі (та її зберігання), вживання напоїв у лабораторії заборонені.
4. Бажано працювати на постійному місці, мати халати, гумові рукавички, окуляри та інші засоби захисту.
5. Перш ніж приступити до роботи з теми, необхідно ретельно ознайомитися з її описом.
6. Без вказівки та дозволу викладача не проводити жодних додаткових дослідів.
7. Перед роботою з приладом та установками студент зобов'язаний

засвоїти принципи дії приладу та основні правила поводження з ним.

8. Не брати прилади, апарати, реактиви загального користування на своє робоче місце.

9. Витрачати реактиви слід економно. Якщо препарату приготовлено більше, ніж необхідно, його надлишки треба зливати в певну ємність, але не повертати в склянку.

10. Користуватися можна лише маркованими реактивами.

11. Роботи зі шкідливими речовинами проводити лише під тягою. Концентровані кислоти та луги наливати обережно під витяжною шафою; не брати їх на свої робочі місця.

12. Якщо випадково пролита кислота або луг, то необхідно швидко змити розчин інтенсивним струменем води з водопровідного крана, а потім звернутися до лаборанта і за його вказівкою привести в належний порядок своє робоче місце.

13. Не виливати в раковину відпрацьовані концентровані кислоти та луги, а користуватися для цього банками, встановленими під тягою.

14. Жодні речовини в лабораторії не можна пробувати на смак. Якщо необхідно визначити запах газу або пари рідини, що зберігається в банку або посудині, не можна підносити їх близько до обличчя, слід легкими рухами руки направити повітря від шийки або отвору судини до носа.

15. У процесі будь-яких реакцій на повітрі або при нагріванні не можна тримати посудину отвором до себе або іншим працюючим.

16. Гарячі прилади та посуд ставити лише на спеціальні підставки, а не на відкритий стіл.

17. Не можна користуватися під час проведення дослідів брудним посудом.

18. Не можна використовувати скляний посуд, якщо на ньому є тріщини, сколи, щербини. При обробці скла напільником слід змочити його водою, щоб скляний пил не потрапив у вічі. Перед тим як вставляти скляну трубку в гумовий шланг або пробку, їх потрібно змочити водою або гліцерином, або обмотати руку рушником. Це захистить від тяжких травм.

19. При роботі з вакуумними приладами завжди є небезпека вибуху. Прилад слід помістити в дротяну сітку або хоча б обернути рушником.

20. Уважно стежити, щоб не було витoku газу, інакше негайно повідомляти про це лаборанту чи викладачеві.

21. Після закінчення роботи потрібно вимити використану посуду, вимкнути воду, газ, електрику і приведенне в порядок робоче місце

здати лаборанту.

22. Ретельно вимити руки теплою водою з милом та щіткою.

Хімічний посуд

За призначенням посуд можна розділити на посуд загального призначення, спеціальний та мірний.

Посуд загального призначення необхідний в більшості робіт і є в лабораторії. Це пробірки, лійки прості та ділільні, колби плоскодонні, склянки, кристалізатори, конічні колби (Ерленмейєра), колби Бунзена, холодильники, реторти. *Спеціальний посуд* застосовується тільки для якоїсь певної мети, наприклад апарат Кіппа, апарат Сокслета, прилади для визначення щільності, молекулярної маси та ін. До *мірного посуду* відносять мірні циліндри та мензурки, пробірки, піпетки, бюретки та мірні колби.

При проведенні якісних дослідів застосовують пробірки місткістю 5-6 мл, частіше конічні. Їх поміщають у пластикові чи дерев'яні штативи. Абсолютно неприпустимо притискати пробірки з речовинами до будь-яких предметів.

Об'єм реагентів у пробірці не повинен перевищувати 1/4 об'єму. Сипучі речовини вносять у пробірку за допомогою шпателя або совочка з кальки або паперу шириною, трохи меншою за метр пробірки, а довжиною, що відповідає довжині пробірки. Реактиви, налиті в пробірку, перемішують у лівій руці, ударяючи по низу пробірки вказівним пальцем правої руки. Якщо пробірка заповнена рідиною більше ніж наполовину, її вміст перемішують скляною паличкою. Не можна закривати пробірку пальцем і струшувати її вміст.

Нагрівати речовини до 100 °С (температура кипіння води) можна і в конічних колбах, і в хімічних склянках на електроплитці або газовому пальнику з азбестованою сіткою. Реакції за більш високої температури проводять у круглодонних колбах.

Різні сорти скла мають різні термічні властивості. Звичайне хімічне скло через високий температурний коефіцієнт розширення термічно малостійке. Тонко стінний посуд та вироби зі звичайного хімічного скла можна нагрівати лише до температури кипіння води на азбестовій сітці, уникаючи різких змін температури. Не можна нагрівати кристалізатори - плоскодонні скляні товстостінні чашки. Скло «пірекс» жаростійке та хімічно стійке. Високою механічною міцністю та термостійкістю характеризується і «молібденове» скло, проте воно хімічно менш стійке. Найбільш термостійке кварцове скло.

Для зберігання та переливання невеликих кількостей рідин використовують крапельниці, піпетки та бюретки. *Крапельниці* бувають найчастіше двох типів. Здавлюючи і відпускаючи гумовий ковпачок (від піпетки очної) крапельниці, можна набирати в піпетку ріdkу кістку, відливати потрібне число крапель. З крапельниці з дзьобиком рідина виливається в посудину при нагріванні повітря над розчином теплом руки.

У лабораторіях користуються *піпетками Мора* (прості) та *піпетками градуйованими*. Останні застосовують для відмірювання - різних об'ємів рідини. Піпетки Мора призначені для перенесення певного об'єму рідини з однієї судини до іншої.

Піпетки наповнюють рідиною в такий спосіб. Піпетку беруть великим та середнім пальцями та опускають нижній кінець її в рідину; через верхній кінець піпетки гумовою грушею всмоктують рідину так, щоб рівень її піднявся вище мітки. Швидко закривають вказівним пальцем верхній отвір піпетки. Тримаючи піпетку строго вертикально, піднімають її так, щоб мітка опинилася на рівні очей, потім потроху послаблюють палець на верхньому отворі піпетки, щоб рідина повільно витікала. У той момент, коли нижня частина меніска рідини, що опускається, торкнеться мітки, верхній отвір знову щільно закривають пальцем.

Отруйні рідини, що сильно пахнуть, а також міцні розчини кислот і лугів рекомендується відбирати гумовою грушею, приєднуючи її за допомогою гумової трубки до верхнього кінця піпетки. Після насмоктування грушу знімають і рідину доводять до мітки, як було зазначено вище.

Бюретки застосовують для титрування розчину, який використовується в лабораторії в об'ємному аналізі. Для відмірювання малих об'ємів рідини використовують мікробюретки.

Бюретку споліскують 3 - 4 рази дистильованою водою і 3 рази невеликими порціями розчину, що заповнюється. Щоразу після промивання дають можливість рідини повніше стекти з бюретки. Потім бюретку наповнюють розчином трохи вище верхньої риси і відкривають кран або затиск так, щоб кінчик бюретки наповнився розчином і вийшли всі бульбашки повітря. Якщо з кінчика бюретки бульбашка не виходить, треба, зігнувши каучукову трубку, підняти догори кінчик бюретки і відкрити затискач. Бульбашка швидко піднімається вгору і виходить. Якщо бюретка з краном, можна видалити бульбашку, різко відкривши кран і пустивши сильний струмінь розчину, або за допомогою гумової груші.

Перед початком титрування треба довести рівень рідини в бюретці до нульової межі. Точність відліків за бюреткою становить 0,02 мл. Тому відліки слід записувати з двома десятковими знаками (наприклад, 15,00 або 16,34). Мікробюретки на відміну від звичайних мають градування 0,01 мл, що дає змогу робити відліки з більшою точністю.

Мірний (вимірювальний) *хімічний посуд* застосовується для відмірювання (і вимірювання) об'ємів рідин або для приготування розчинів заданого об'єму та певної концентрації. На зовнішній стінці циліндрів і мензурок нанесені поділки, що вказують об'єм у міліметрах або в частках міліметра (1 мл відповідає 1 см^3 , $1000 \text{ мл} = 1 \text{ л}$, 1 л відповідає 1 дм^3 , $1 \text{ дм}^3 = 1 \times 10^{-3} \text{ м}^3$). Кільцева мітка на горлі колби відповідає вказаному об'єму при $25 \text{ }^\circ\text{C}$. Щоб відміряти потрібний об'єм рідини або визначити наявний, рідину наливають у вимірювальний посуд доти, доки край меніска не досягне бажаного поділу. Око і поверхня рідини повинні бути в одній горизонтальній площині. Зазвичай вимірювання об'єму проводять по нижньому краю меніска, якщо рідини, що змочують скло, прозорі, і по верхньому - для непрозорих.

Весь мірний посуд повинен бути ретельно вимитий хромовою сумішшю і промитий водою.

При користуванні градуйованим мірним посудом важливо знати так звану ціну поділу, тобто скільком мілілітрам або долям мілілітра рідини відповідає кожне поділ.

Ціна поділу визначається наступним чином: на шкалі знаходять нульову поділку, а потім, уважно розглядаючи шкалу, знаходять наступну поділку, позначену цифрою. Наприклад, об'єм від 0 до 1 становить 1 мл; вважають число дрібних поділів між нулем та першою значущою цифрою; безпосередньо визначають ціну одного поділу. Для цього об'єм від нуля до цифри ділять на число поділів.

Порцеляновий посуд більш міцний, ніж скляний. Зазвичай використовуються фарфорові склянки різних місткостей, чашки для випарювання різного діаметру, ступки, фарфорові тиглі, лійки Бюхнера, ложки та шпателі.

Посуд із поліетилену, фторопласту та інших пластиків також є в лабораторному побуті. Вона легка, міцна, хімічно стійка. Найчастіше використовують флакони та промивалки з поліетилену, лійки, мензурки та центрифужні пробірки. У поліетиленовий посуд можна наливати гарячі розчини з температурою до $200 \text{ }^\circ\text{C}$. Недоліком поліетиленового посуду є здатність міцно адсорбувати азотну та

соляну кислоту. Після них відмити поліетиленовий посуд досить складно.

Ексикатори застосовують для висушування матеріалу та збереження речовин, що поглинають вологу з повітря, а також для вакууму інфільтрації розчинів у рослини. Скляна кришка ексикатора притерта до верхнього циліндра. Ексикатори бувають звичайні та вакуумні, що мають кран. Можна з'єднати ексикатор з вакуумним насосом, створюване всередині розрідження сприяє висушуванню матеріалу, що зберігається в ньому.

Притерті частини ексикатора повинні бути змащені вазеліном або вакуумним мастилом. Всередину на дно циліндра поміщають фарову вкладку. Як поглиначі в ексикаторі використовують безводний хлористий кальцій, силікагель і фосфорний ангідрид — найсильніший поглинач води. Кількісну частину ексикатора заповнюють поглиначем приблизно третину висоти. Для поглинання води можна використовувати і сульфатну кислоту, але лише коли її пари не взаємодіють із матеріалом в ексикаторі.

Маркування посуду. Кожна колба, пробірка або посудина мають бути марковані, тобто на них повинні бути позначені назва речовини, номер досвіду, дата, час та інші потрібні відомості.

Найчастіше застосовують тимчасове маркування восковими олівцями (деякі витримують високу температуру, навіть автоклавування). Застосовують також чорнило різного кольору, фломайстри та склографи.

Судини для рослин зазвичай маркують, встромляючи в субстрат дерев'яну або пластмасову планку (можна використовувати дерев'яний медичний шпатель), а також прив'язуючи паперові етикетки. Пластмасові контейнери можна помітити липкою стрічкою, фломастером або восковим олівцем для скла.



Рисунок - Лабораторний посуд та обладнання.

Правила приготування розчинів лугів та кислот

Техніка приготування розчинів лугів і кислот відрізняється від техніки приготування розчинів солей.

Правила приготування розчинів лугів

1. Шматочки лугу не можна брати голими руками, їх можна брати

пінцетом, щипцями, а якщо потрібно взяти руками, обов'язково в гумових рукавичках. Гранульований луг (у вигляді маленьких коржиків) насипають фарфоровою ложечкою.

2. Луг, що відважується, не можна класти на папір; її можна зважувати тільки в скляному або фарфоровому посуді.

3. Луг не можна розчиняти в товстостінних суліях, тому що при розчиненні відбувається сильне розігрівання і сулія може тріснути.

Правила приготування розчинів кислот

Розрахунки при приготуванні кислот інші, ніж при приготуванні солей і лугів, оскільки концентровані розчини кислот містять воду. Потрібна кількість кислоти не відважують, а відміряють мірним циліндром.

1. Розчин не можна готувати в товстостінній бутлі, тому що при розведенні кислот, особливо сульфатної, відбувається сильне розігрівання. Розчини кислот готують в колбах.

2. При розведенні розчину не можна лити воду кислоту. В колбу наливається розрахована кількість води, а потім тонким струменем поступово при перемішуванні додають потрібну кількість кислоти. Кислоту та воду відміряють мірними циліндрами. Операцію проводять в окулярах.

3. Після того як розчин охолоне, його переливають у сулію і наклеюють етикетку.

Терези та зважування

Залежно від точності, з якою проводиться зважування, розрізняють і групи ваг. Одні призначені для грубого зважування (точність до 1 г), інші — для більш точного (до 1 мг). До перших відносяться чашкові та циферблатні ваги, до других - технохімічні та технічні ваги. Найточніші – аналітичні ваги – дозволяють визначити масу з точністю до часток міліграма.

Для кожної ваги є своя різноважка — набір гир різної маси. У різноважки для чашкових ваг можуть бути гирі від 1 кг до 1 г. Терези можуть бути одночашкові та двочашкові.

На терезах зазвичай вказано граничне навантаження, перевищувати яке не рекомендується.

Загальні правила роботи з вагами

1. Одне з головних правил: встановлення ваг у правильному положенні за рівнем або схилом. Для регулювання положення використовують передні гвинтові підпірки ваг. Необхідно виключити їх вібрацію.

2. Терези забороняється пересувати і тим більше переносити з місця на місце.
3. Нуль на терезах обов'язково перевіряється перед роботою.
4. У жодному разі не можна насипати речовини на чашку терезів! Зважувати речовини дозволяється на аркуші паперу (краще кальки), на годинному склі, у склянці, бюксі тощо. Зрозуміло, маса речовини визначається як результат різниці двох зважувань - порожньої тари та з речовиною.
5. Забороняється на чашки ставити брудні предмети.
6. Класти предмети на чашку можна тільки при арретованих вагах.
7. Речовини та тару завжди зважують за тієї температури, за якої знаходяться самі ваги. Тому якщо тіло, що зважується, було взяте з сушильної шафи, печі або холодильника, його слід витримати поруч із вагами 5-10 хв, щоб воно мало температуру ваг.
8. Якщо в одній роботі потрібно провести кілька зважувань, то слід користуватися лише однією і тією ж вагою (і одним різновагою). Перед початком роботи слід перевірити вертикальне положення стійки ваги.

Фільтрування

Фільтруванням називають відділення від рідини частинок твердої речовини, що знаходяться в ній, за допомогою фільтруючої перегородки (фільтра). Рідина, що відокремлюється при фільтруванні, називається *фільтратом*.

Складчастий паперовий фільтр виготовляють наступним чином: спочатку роблять з фільтрувального паперу простий гладкий фільтр, потім складають його навпіл і згинають кілька разів в один і інший бік, далі кожну чверть фільтра знову згинають пополам і так далі, поки не вийде конусоподібна гармошка. При фільтруванні фільтр не повинен виступати за краї вирви або бути нижче їх на 0,5-1,0 см. Складчасті фільтри використовують, коли для подальшої роботи потрібен розчин; якщо потрібно отримати осадок, то використовують гладкі фільтри, з яких його легко зібрати.

Найчастіше фільтрування в колбу призупиняється через те, що повітря не проходить у місці дотику лійки з краєм горла колби. У цьому випадку треба частіше злегка піднімати лійку або під лійку на колбу покласти шматочок паперу, згорнутий у трубочку і загнутий посередині.

Іноді потрібно відфільтрувати гарячий розчин, попереджаючи його охолодження та випадання в осад розчиненої речовини. Тут

доцільні лійки для гарячого фільтрування.

Фільтрування за зниженого тиску. Фільтрування можна суттєво прискорити, подаючи розчин на фільтр під тиском або, навпаки, знижуючи тиск під фільтром.

У лабораторному практикумі застосовується фільтрування при -нижчому тиску (іноді говорять «під вакуумом»). Його проводять за допомогою товстостінної колби з відростком, що приєднується до вакуумної мережі або водострумного насоса. До колби через гумову пробку або шліф вставляють звичайну лійку або спеціальну лійку Бюхнера. Знижений тиск для фільтрування (і висушування) речовин створюють за допомогою скляного або металевого водострумного насоса. Розрідження в ньому створюється водяним струменем, що захоплює при своєму русі повітря.

Вимикати воду у водострумному насосі треба повільно, щоб тиск у колбі поступово наблизився до атмосферного, у протилежному випадку водопровідна вода спрямовується в колбу з відфільтрованою рідиною. Для запобігання попаданню води у фільтр витрат іноді між насосом і колбою включають проміжну товстостінну двогорлу склянку.

Приготування деяких розчинів, реактивів, барвників, індикаторів тощо

Розчини

1. Баритова вода. На 1 л розчину беруть 7-10 г барію гідроксид. Розчиняють його в 100 мл дистильованої води (при слабкому нагріванні). Потім швидко і щільно закупорюють судину і протягом 10-15 хв збовтують. Процедуру повторюють 10-15 разів протягом доби. Потім, коли розчин відстоюється, через сифон обережно переливають його в пляшку (краще такого ж об'єму). Сифонні трубки повинні бути щільно вставлені в пробки пляшок, інакше при зіткненні з вуглекислою повітря розчин буде мутніти.

2. Вода без CO_2 . Дистильовану воду прокип'ятити не менше 30 хв для видалення розчиненого CO_2 . Перелити в склянку з кришкою, що щільно закривається, закрити і охолодити.

3. Дезинфікуючі розчини: 3-5% розчин фенолу, 0,5-3% розчин хлораміну, 2-3% розчин NaHCO_3 ; формаліну 1 мл у 300 мл води, 1% розчин перманганату калію та ін.

4. Калій їдкий для просвітлення зрізів. 5% розчин зберігають у склянці з корковою пробкою, просоченою парафіном. Іноді використовують 30% NaOH або KOH для тієї ж мети.

5. Концентровані розчини пігментів для вивчення оптичних властивостей:

а) хлорофіл у суміші пігментів. Сухе листя кропиви подрібнюють і наповнюють ними склянку темного скла на 2/3 об'єму. Заливають етанолом на 2-3 см вище за рівень листя і залишають на 5-7 днів у холодильнику для екстракції, а потім екстракт відфільтровують;

б) каротин. 2-3 коренеплоди моркви подрібнюють на тертці, поміщають у темну склянку і заливають бензином на 1-2 см вище за рівень тканини. Залишають у холодильнику на 5-7 днів, а потім відфільтровують;

в) ксантофіл. До витяжки пігментів (див. підпункт а) додають бензин у співвідношенні 1:1 і 1-2 краплі води. Різко струшують. Верхній зелений шар відбирають піпеткою. Якщо нижній шар має зелений відтінок, доливають чистий бензин і 1 - 2 краплі води і знову струшують. Процедуру повторюють до видалення зеленого відтінку. Чистоту пігментів контролюють за допомогою спектрофотометру.

6. Люголю розчин (для фарбування крохмалю, глікогену, гранульози білків).

I спосіб. Кристалічний йод – 7 г, калію йодид – 20 г, дистильована вода – до 300 мл. Йодид розтирають у ступці з 10 мл дистильованої води, додаючи навішування йоду. І знову розтирають до повного розчинення йоду в йодиді калію (йод у воді нерозчинний). Розчин переносять до склянки, загальний об'єм доводять до 300 мл дистильованою водою. Розчин зберігають у темній склянці 30 днів.

II метод. Найчастіше використовують рецепт Грама: 2 г йодиду калію розчиняють при нагріванні 5 мл дистильованої води; потім у цьому розчині розчиняють 1 г металевого йоду, після чого додають води до 300 мл. Зберігають у оранжевій склянці із притертою пробкою. Під дією реактиву крохмальні зерна забарвлюються до чорного та блакитного кольору, а білки (алеїронові зерна, цитоплазма) – у жовтий колір. Для виявлення білків найчастіше застосовують видозмінений розчин наступного складу: 1 г йоду + 3 г йодиду калію + 100 мл води.

6. Поживний розчин Кнопа для водних культур, а також для підживлення рослин:

(г/л): $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ - 1,00; KNO_3 - 0,25; KH_2PO_4 – 0,25; KCl – 0,12; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,25; $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 5% - 1 крапля.

7. Суміш мікроелементів:

№ 1 (г/л): H_3BO_3 - 2,86; MnCl_2 - 1,81; ZnSO_4 – 0,22; CuSO_4 – 0,08; молібденова кислота - 0,02;

№ 2 (%): H_3BO_4 - 0,03-0,05; ZnSO_4 - 0,03-0,05; KMnO_4 - 0,06-0,1;

CuSO_4 – 0,02-0,05; $5(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$ – 0,06-0,01; NiSO_4 – 0,001-0,002.

8. Оргскло в хлороформі для отримання відбитків (зліпків) продихів. Скло і хлороформ, взяті у співвідношенні 1:10, розчиняють протягом 12 год. Додають невелику кількість хлорофору, поки тягуча крапля легко стікає зі скляної палички. Зберігають у посудині з притертою пробкою.

9. Tween-80 або Tween-60 — змочувачі для кращого проникнення фітогормонів та інших речовин у рослини. Застосовують водні розчини концентрації 0,01 %.

10. Фітогормони для обробки рослин:

а) зважені речовини ІОК, абсцизової кислоти, гібереліну в необхідній концентрації (мг/л, М, % і т.д.) розчиняють у невеликій кількості етанолу (0,2-1 мл) і доводять об'єм водою до потрібного;

б) кінетин (20 мг/л). Наважку 2 мг розчиняють в 1-3 мл 0,1 н КОН, доводять значення рН до 6,5-7, додаючи 0,1н НСl, а потім дистильованою водою доводять об'єм до 100 мл;

11. Розчини для охолодження.

Охолоджуючі суміші

Солі, що додаються на 100 частин снігу	Досяжна температура, °С	Солі, що додаються на 100 частин снігу	Досяжна температура, °С
30 частин КСl	-10,9	9 частин KNO_3 + 67 частин NH_4CNS	-28,2
25 частин NH_4CNS	-15,4	32 частини NH_4NO_3 + 59 частин NH_4CNS	-30,6
45 частин NH_4NO_3 ,	-16,7	54,5 частини NaNO_3 + 39,5 частини NH_4CNS	-37,4
50 частин NaNO_3	-17,7	143 частини CaCl_2 (кристалічний)	-50,0
33 частини NaCNS	-21,3	-	-

12. Формалін CH_2O . Стандартний розчин формаліну містить 37-37,3% формальдегід, 6-15% метанол, який використовують як стабілізатор, і 0,02-0,04% мурашину кислоту, завдяки чому розчин має кислу реакцію середовища (рН 2,8-4,0). Формальдегід полімеризується з утворенням параформальдегід, який при тривалому зберіганні розчину випадає в осад. При наявності каламуті або осаду формалін перед вживанням фільтрують, що знижує концентрацію

формальдегіду. Доцільніше підігріти препарат до температури 50 °С і витримати в термостаті при цій температурі 24 год. Слід мати на увазі, що формалін токсичний. Гранично допустима концентрація їх у повітрі — 0,001 мг/дм³.

Зберігають формалін у скляній тарі, в захищеному від світла місці, при температурі не нижче 21 °С - для вищого гатунку, і не нижче 7 °С - для першого сорту.

13. Хромова суміш для миття посуду – «хромпик». У концентровану сульфатну кислоту додають 5 % (від об'єму кислоти) добре подрібненого дихромату калію. Отриману суміш збовтують і залишають на добу для розчинення. Готовий розчин має темно-жовтогарячий колір і може бути застосований для миття посуду. Зміна кольору хромової суміші на темно-зелений свідчить про її непридатність.

14. Хлориду натрію насичений розчин. У конічну колбу місткістю 200 см³ вносять 26,4 г хлориду натрію і 100 см³ дистильованої води температурою 25 °С. Вміст колби перемішують. Колбу закривають пробкою і витримують при температурі 25 °С протягом декількох годин. Після цього вміст фільтрують.

15. Ізотонічний коефіцієнт (NaCl) для розрахунку осмотичного потенціалу за рівнянням Вант-Гоффа.

Таблиця - Значення ізотонічного коефіцієнта i для розчинів NaCl (20°C)

NaCl, M	1,0	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1	0,01
i	1,62	1,64	1,66	1,68	1,70	1,73	1,75	1,78	1,83	1,93

Тут $i = 1 + a(i - 1)$, де a - ступінь дисоціації; n - число іонів, на яке дисоціює молекула.

Реактиви

1. Вазелінове масло запобігає випаровуванню з поверхні зрізів.
2. Гліцерин [C₃H₅(OH)₃] вживають для просвітлення тимчасових - препаратів (2 частини гліцерину, 1 частина води), для збереження зрізів, для приготування гліцерин-желатини та для інших цілей.
3. Іммерсійна олія — очищена та згущена кедрова олія ($i = 1,515$). Застосовують до розгляду препаратів під час роботи з об'єктивом х90. Краплю іммерсійної олії поміщають між об'єктивом та покривним склом препарату. Для видалення іммерсійної олії з

об'єктивів і препаратів застосовують бензин або спирт.

4. Абсолютний спирт - звичайний етиловий спирт-ректифікат, має міцність 96%. Деякі досліди проводять із абсолютним спиртом. Для його отримання невелика кількість $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ретельно розтирають у ступці і прожарюють у фарфоровому тиглі до повного переходу синього забарвлення порошку в біле, що вказує на зневоднення мідного купоросу. Після остигання тигля (в ексикаторі) зневоднений сульфід купруму висипають у склянку зі спиртом та щільно закривають пробкою.

Фіксуючі рідини

1. Етанол 70-80%. Час фіксації 12 год.

2. Оцтовий алкоголь. Склад: 3 частини абсолютного (або 96%-ного) етанолу та 1 частина крижаної оцтової кислоти. Тривалість - фіксації від 2 до 12 год, після чого матеріал промивають трьома змінами 80% етанолу.

3. Фіксатор Чемберлен. Склад: 50-70% етанол - 90 частин, 40%-ного формалін - 5 частин, крижана оцтова кислота - 5 частин. Тривалість фіксації 12-16 год. У фіксаторі можна зберігати матеріал довгий час.

4. Фіксатор Карну. 96% етанол - 60 мл, хлороформ - 30 мл, крижана оцтова кислота - 10 мл. Час фіксації 12 год.

Барвники

1. Нейтральний червоний для прижиттєвого фарбування клітин. Спочатку готують концентрований розчин, який можна зберігати. 0,1 г нейтрального червоного розчиняють у 60 мл етанолу і додають води до 100 мл. Для прижиттєвого забарвлення цей розчин розбавляють перед вживанням водопровідною водою, що має рН 7, щодо 1:10000.

2. Судан III та Судан IV для фарбування жирів кутину, суберину в концентрації 0,5 % у 96 % етиловому спирті або концентрований молочній кислоті.

3. Метиленовий синій. 6 г розчиняють у 100 мл 96% етанолу. Наважку фарби висипають у склянку з темного скла, заливають спиртом і ставлять у термостат при температурі 37 °C на 18 - 24 год, періодично струшуючи розчин. За цей час більша частина фарби розчиняється, на дні склянки залишається невеликий осад, що свідчить про насичення розчину. На основі насичених розчинів готують водні розчини фарб на дистильованій воді, використовуючи барвники у співвідношенні: 1:100; 1:1000 (для прижиттєвих препаратів та методу Шардакова, для виявлення виділення O_2 при фотосинтезі) або 1:10; 1:40 (для постійних препаратів).

4. Фуксин основний. 10 г фарби розчиняють у 100 мл 96% етанолу.

Кислотно-основні індикатори

1. Метилловий червоний для визначення фотосенсибілізуючої активності хлорофілу. Область переходу фарбування індикатора рН 4,2-6,2, наважку в 0,2 г розчиняють у 60 мл 96% етанолу і додають води до 100 мл.

2. Метилловий червоний для титрування слабких основ та аміаку. Водний розчин метилового червоного пофарбований у оранжевий колір. Декілька крапель такого розчину фарбують 50-100 мл води в блідо-жовтий колір. Головна перевага цього індикатора полягає в надзвичайно різкому переході блідо-жовтої окраски у фіолетово-червону від однієї краплі соляної кислоти (без проміжних відтінків), яка майже знебарвлюється від однієї краплі 0,1 гідроксиду натрію. Для приготування розчину метилового червоного беруть наважку 0,02 г і розчиняють її в 100 мл гарячої води. Після охолодження розчину його фільтрують. На кожні 100 мл розчину, що титрується, беруть 2-3 краплі індикатора.

Таблиця - Спосіб приготування та властивості окремих індикаторів

Індикатор	Область переходу (інтервал рН)	Забарвлення		Спосіб приготування
		кислотної форми	лужної форми	
Крезоловий червоний з масовою часткою 0,1%	0,2-1,8 7,0-8,8	Червона Жовта	Жовта Пурпурна	0,10±0,01г індикатора розчиняють у 100 см ³ дистильованої води
Крезоловий пурпурний з масовою часткою 0,1%	1,2-2,8 7,4-9,0	Червона Жовта	Жовта Пурпурна	0,10±0,01г індикатора розчиняють у 100 см ³ етанолу
Метилловий червоний з масовою часткою 0,1 %	4,4-6,2	Червона	Жовта	0,10±0,01г індикатора розчиняють у 100 см ³ 95%о етанолу

Метилловий помаранчевий з масовою часткою 0,1%	3,1-4,4	Рожева	Оранжево жовта	0,10±0,01г індикатора розчиняють у 100 см ³ дистильованої води
Нейтральний червоний з масовою часткою 0,1%	6,8-8,0	Червона	Жовто-коричнева	0,10±0,01г індикатора розчиняють у 100 см ³ 96% етанолу
Тимол - фталеїн з масовою часткою 0,1%	9,3-10,5	Відсутня - —	Синя	0,50±0,01г індикатора розчиняють у 100 см ³ 96% етанолу
Фенол - фталеїн з масовою часткою 0,1%	8,0-9,6	Відсутня - —	Червона	0,10±0,01г індикатора розчиняють у 100 см ³ 96% етанолу
Азолітлін лакмус	5,0-8,0	Червона	Синя	0,50±0,01г індикатора розчиняють у 100 см ³ води

Папір

1. Фільтрувальна. Вживають для виготовлення фільтрів, залишки нарізають розміром приблизно 2,5 x 2,5 см і використовують для видалення надлишку води та реактивів з тимчасових препаратів та інших цілей.

2. Хлор-кобальтова. Фільтрувальний папір або обеззолені тонкі фільтри поміщають протягом хвилини в кювету з розчином.

Характеристика деяких кислотно-основних індикаторів розчином хлориду кобальту, приготованим по Камерлінгу (в 100 мл води розчиняють 67 г $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 + 264$ г NaCl), а потім шматочки паперу висушують у підвішеному стані на скляних паличках до появи блакитного кольору. З паперу вирізають кружечки діаметром 1 см і поліетиленовою стрічкою з клейким шаром приклеюють по дві до підкладки (скла, пластмаси, відмитої фотоплівки, поліетиленової плівки). Зберігають підкладки з хлоро-кобальтовим папером в ексикаторі над хлоридом.

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Мусієнко М.М. Фізіологія рослин. Київ : Вища шк., 1995. 385 с.
2. Макрушин М.М., Макрушина Є.М., Петерсон Н.В. Фізіологія сільськогосподарських рослин з основами біохімії. Київ : Урожай, 1995. 352 с.
3. Лебедев С.И. Физиология растений. Москва : Колос, 1988. 544 с.
4. Петерсон Н.В., Черномирдіна Т.О., Куреляк Є.К. Практикум з фізіології рослин. Київ: Вид-во НАУ, 1995. 189 с.
5. Брайон О.В., Чикаленко В.Г., Славний П.С., Мережинський Ю.Ю., Білановський М.Ф. Фізіологія рослин: Практикум. Київ : Вища шк., 1995. 191 с.
6. Плешков Б.П. Биохимия сельскохозяйственных растений. Москва : Агропромиздат, 1987. 494 с.
7. Полевой В.В. Физиология растений. Москва : Высш. шк., 1989. 464 с.
8. Практикум по физиологии растений. под. ред. проф. Н.Н. Третьякова. Москва : Агропромиздат, 1990. 270 с.
9. Рудишин С.Д. Основи біотехнології рослин. Підручник для вищих аграрних закладів. Вінниця, 1998. 234 с.
10. Третьяков Н.Н., Кошкин Е.И., Макрушин Н.М. Физиология и биохимия сельскохозяйственных растений. Москва : Колос, 2000. 640 с.