

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
ХЕРСОНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ФАКУЛЬТЕТ БІОЛОГІЇ, ГЕОГРАФІЇ І ЕКОЛОГІЇ  
КАФЕДРА БОТАНІКИ

# ФІЗІОЛОГІЯ                      РОСЛИН

методичні рекомендації до лабораторних занять  
(робочий зошит)



Студента(ки) \_\_\_\_\_

Спеціальність \_\_\_\_\_

Група \_\_\_\_\_

УДК 371.321

З–14

Загороднюк Н.В.

**З 14** Фізіологія рослин: методичні рекомендації до лабораторних занять / Н.В. Загороднюк, Р.П. Мельник. – Херсон, ФОП Вишемирський В.С., 2019. – 98 с.

2-ге видання, перероблене і доповнене

**ISBN 978-617-7783-19-9**

Для здобувачів ступеня вищої освіти бакалавр спеціальностей 091 Біологія, 014 Середня освіта (біологія) денної та заочної форм здобуття освіти

В представленому виданні методичних рекомендацій до лабораторних занять представлені лабораторні роботи з основних тематичних блоків курсу фізіології рослин: «Фізіологія рослинної клітини», «Водний режим рослин», «Дихання рослин», «Мінеральне живлення рослин», «Фотосинтез», «Ріст і розвиток рослин», «Стійкість рослин». Виконання лабораторних робіт спрямоване на засвоєння студентами навчального матеріалу, викладеного на лекціях та розглянутого під час самостійної позааудиторної роботи, на формування у студентів здатності до науково-дослідної діяльності. Проведення фітофізіологічних експериментів дозволить здобувачам в режимі реального часу встановити, як функціонує організм вищої рослини.

Рецензенти: доктор педагогічних наук, професор кафедри біології людини та імунології, завідувач лабораторії методики загальної біології, професор **М.М. Сидорович**

кандидат сільськогосподарських наук, доцент кафедри ботаніки та захисту рослин Херсонського державного аграрного університету, доцент С.О. Онищенко

*Обговорено методичні рекомендації до лабораторних занять на засіданні кафедри ботаніки (протокол від 03 вересня 2018 року № 2)*

*Розглянуто методичні рекомендації до лабораторних занять на засіданні науково-методичної ради факультету біології, географії і екології (протокол від 08 листопада 2018 року №2)*

*Схвалено методичні рекомендації до лабораторних занять відповідно до ухвали науково-методичної ради Херсонського державного університету (протокол від 20 лютого 2019 року №3)*

*Рекомендовано методичні рекомендації до лабораторних занять до друку відповідно до ухвали вченої ради Херсонського державного університету (протокол від 21 лютого 2019 року №7)*

ISBN 978-617-7783-19-9

© Загороднюк Н.В., Мельник Р.П., 2019

© ХДУ, 2019

© ФОП Вишемирський В.С., 2019

## ЗМІСТ

Передмова	.....	4
Тема	<b>ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИННОЇ КЛІТИНИ</b>	
Робота №1	Осмотичні властивості рослинної клітини .....	6
Робота №2.	Ступінь проникності цитоплазми рослинної клітини .....	12
Робота №3.	Рух цитоплазми в клітинах .....	18
Колоквіум	<b>Фізіологія рослинної клітини</b> .....	21
Тема	<b>ВОДНИЙ РЕЖИМ РОСЛИН</b>	
Робота №4.	Надходження та пересування води рослиною .....	22
Робота №5.	Транспірація. Рух продохів .....	26
Робота №6.	Екологія водного режиму рослин: посухостійкість.....	33
Колоквіум	<b>Водний режим рослин</b> .....	38
Тема	<b>ДИХАННЯ РОСЛИН</b>	
Робота №7	Ферменти каталітичних систем дихання рослин (частина 1)...	39
Робота №8	Ферменти каталітичних систем дихання рослин (частина 2)...	44
Робота №9.	Кількісні показники дихання.....	46
Колоквіум	<b>Дихання рослин</b> .....	50
Тема	<b>МІНЕРАЛЬНЕ ЖИВЛЕННЯ РОСЛИН</b>	
Робота №10.	Фізіологічна роль мінеральних елементів .....	51
Робота №11.	Надходження і рух елементів тілом рослини .....	56
Робота №12.	Визначення кількості нітратів в рослині.....	58
Колоквіум	<b>Мінеральне живлення рослин</b> .....	60
Тема	<b>ФОТОСИНТЕЗ</b>	
Робота №13.	Пігменти листка, їх фізичні властивості. ....	61
Робота №14.	Пігменти листка, їх хімічні властивості .....	66
Робота №15.	Вміст хлорофілу в рослині .....	70
Робота №16.	Хімізм і енергетика фотосинтезу: кількісні та якісні показники .....	73
Колоквіум	<b>Фотосинтез</b> .....	76
Тема	<b>РІСТ І РОЗВИТОК РОСЛИН</b>	
Робота №17.	Ріст кореня і стебла. ....	77
Робота №18.	Дія фітогормонів на утворення і ріст коренів рослин .....	83
Робота №19.	Рухи рослин .....	86
Тема	<b>СТІЙКІСТЬ РОСЛИН</b>	
Робота №20.	Холодостійкість рослин. ....	90
Робота №21.	Жаростійкість рослин .....	93
Колоквіум	<b>Ріст і розвиток рослин. Стійкість рослин</b> .....	96

## ПЕРЕДМОВА

Предмет «Фізіологія рослин» – одна з фундаментальних біологічних дисциплін. Вивчення фізіології рослинних організмів має величезне значення у зв'язку з успіхами фундаментальних і прикладних напрямків ботаніки, молекулярної біології, генетики та інших наук, що мають революційне значення для розвитку біології першої половини ХХІ століття. Вивчення дисципліни сприяє формуванню та розвитку у студентів загальних та фахових професійних компетенцій, їх становленню як біологів та вчителів біології, виконання лабораторно-практичних завдань – дозволяє сформувати вміння і навички, необхідні для проведення біологічних і фізіологічних досліджень з рослинними об'єктами на високому науково-методичному рівні. Цим зумовлена необхідність публікації методичних матеріалів для забезпечення проведення лабораторних занять з дисципліни.

Дане видання – перероблений і доповнений варіант методичних рекомендацій, випущених 2017 року. В основу покладений матеріал кількох друкованих практикумів, адаптований до потреб студентів-біологів Херсонського держуніверситету і перероблений згідно з особливостями матеріально-технічного забезпечення навчальних лабораторій кафедри ботаніки ХДУ. Методичні рекомендації оформлені як журнал лабораторних спостережень за перебігом фітофізіологічних експериментів різної тривалості.

### ЗАГАЛЬНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ ДО ВИКОНАННЯ ЛАБОРАТОРНИХ РОБІТ

Методичні рекомендації до лабораторних занять з фізіології рослин розраховані на поглиблене вивчення лекційного курсу фізіології рослин, набуття навичок практичного використання набутих знань, на формування у студентів уявлення про мінливість фізіолого-біохімічних процесів, що відбуваються в організмі рослини, та способах їх регуляції через зміну зовнішніх факторів. В даних методичних рекомендаціях представлені лабораторні роботи з тематичних блоків «Фізіологія рослинної клітини», «Водний режим рослин», «Дихання рослин», «Мінеральне живлення рослин», «Фотосинтез», «Ріст і розвиток рослин», «Стійкість рослин».

До початку заняття студенти повинні ознайомитися з теоретичним матеріалом, що закріплюється під час лабораторних робіт, та письмово дати визначення окремим поняттям в галузі фізіології рослин, з якими він знайомиться в процесі оволодіння теоретичним матеріалом з відповідної теми. До кожного завдання лабораторної роботи додається скорочена теоретична інформація про основи досліджуваних фітофізіологічних процесів, що дозволить студенту перевірити власні знання безпосередньо перед закладкою експерименту. Для кожного завдання-дослідження наводиться поетапний опис ходу проведення фізіологічного експерименту, перелік матеріалів, обладнання та реактивів, і список рекомендованих піддослідних рослинних об'єктів (відібрані з урахуванням природних особливостей Херсонської області та наповнюваності колекції кафедри ботаніки ХДУ). Для виконання завдань робочій групі з 3-4-х студентів пропонується окремий варіант загального дослідження; варіативність досягається за рахунок використання різних піддослідних рослинних об'єктів, реагентів різної концентрації, зміни параметрів чинника, яким впливають на рослини. На фінальній стадії заняття студенти з різних робочих груп узагальнюють отримані результати, порівнюють їх, виявляють закономірності та спільними зусиллями формують висновок.

Хід та результати спостережень фіксуються студентами на відведених для цього сторінках зошиту. Особливо передбачене місце для проведення розрахунків, оформлення ілюстративного матеріалу, написання висновків.

Відображення результатів виконання лабораторного завдання може бути якісним і кількісним. Їх відображають у вигляді малюнків, словесних описів, графіків, таблиць з даними. Вказівки щодо остаточного оформлення експериментального матеріалу дає викладач під час обговорення ходу заняття. В деяких роботах наведені чисті таблиці для оформлення в них отриманих даних; рисунки і графіки студенти оформлюють самостійно.

Досліди в роботах згруповані таким чином, щоб тривалість експерименту не перевищувала одну академічну годину. Довготривалі досліди закладають на одному аудиторному занятті, а спостереження – проводять на іншому. Послідовність виконання експериментів протягом семестру відображена у календарно-тематичному плануванні лабораторних занять.

## **ЗАГАЛЬНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ ДО ЗАХИСТУ ЛАБОРАТОРНИХ РОБІТ**

Виконані лабораторні роботи захищаються студентами в індивідуальному порядку. До захисту допускаються лабораторні роботи, в яких повністю заповнений вступний термінологічний словник, відображені результати спостереження, проведені всі необхідні розрахунки, правильно і грамотно сформульовані висновки. Крім якості та акуратності заповнення зошита, оцінюється знання студентом теоретичної основи процесів і явищ, що досліджувались чи відтворювались під час виконання роботи, а також спроможність відповісти на контрольні запитання. Оцінка виставляється викладачем відповідно до критеріїв оцінювання лабораторних робіт, що наведені в робочій програмі з дисципліни «Фізіологія рослин».

До початку семестрової атестації студент повинен захистити всі лабораторні роботи, передбачені програмою в даному семестрі. За незахищені лабораторні роботи виставляється оцінка «незадовільно».

## **РЕКОМЕНДАЦІЇ ПО ДОТРИМАННЮ БЕЗПЕКИ ЖИТТЄДІЯЛЬНОСТІ**

До початку занять всі студенти групи повинні засвоїти правила з безпеки діяльності і санітарії під час проведення польових дослідів, екскурсійних маршрутів та камеральної обробки матеріалів.

### **ВИМОГИ З ТЕХНІКИ БЕЗПЕКИ ПІД ЧАС ПРОВЕДЕННЯ ДОСЛІДІВ**

1. Студенти групи повинні бути проінструктовані викладачем про хід проведення експерименту та правилами техніки безпеки.
2. Виконувати досліди та закладати експерименти дозволяється групою не менш за двох студентів, і лише за дозволу та керівництва керівника практики.
3. В процесі дослідів студенти повинні чітко дотримуватися поетапного ходу експерименту.
4. Обладнання і реактиви слід використовувати лише за призначенням, відповідно плану дослідів.
5. На робочому місці не повинно бути зайвих предметів, що заважають виконанню передбачених експериментом робіт.
6. Перед початком дослідів необхідно перевірити наявність та надійність посуду, приладу, матеріалів.
7. При роботі зі скляним посудом працювати обережно, не робити різких зайвих рухів, не відволікатися.
8. При роботі з кислотами і лугами студенти повинні дотримуватися правил техніки безпеки при роботі з агресивними реагентами. У випадку потрапляння агресивних речовин на шкіру уражене місце слід промити великою кількістю води і обробити слабким розчином оцту (при потраплянні лугу) або розчином питної соди (при потраплянні кислот).
9. Сипучі реагенти слід набирати тільки шпателем чи лопаточкою.
10. Залишки реактивів, використаного піддослідного рослинного матеріалу збирати в спеціальний посуд, приготований заздалегідь.
11. При роботі з нагрівальними приладами (електроплитка, спиртівка) слід ретельно притримуватися правил протипожежної безпеки.
12. При виявленні несправностей в приладах чи обладнанні про це необхідно негайно повідомити керівника практики та зупинити виконання експерименту.
13. По завершенні дослідів слід вимкнути прилади, вимити посуд, впорядкувати обладнання та помістити його у спеціально відведені для цього місця.

### **ЗАБОРОНЯЄТЬСЯ:**

1. Працювати з несправними електроприладами.
2. Залишати без нагляду діючі прилади, електричні та спиртові нагрівачі та інші електроприлади.
3. Працювати з невідомими реактивами.
4. Працювати з будь-якими реактивами без прямого дозволу керівника практики.
5. Використовувати реактиви і обладнання не за призначенням.
6. Під час виконання дослідів вживати їжу, куштувати реактиви або піддослідні об'єкти на смак.
7. Відлучки з території, на якій проводяться роботи, та з території бази практики загалом, без дозволу керівника практики.
8. Вживати в їжу рослини, які використовуються в якості піддослідних об'єктів чи входять до складу колекції кімнатних рослин кафедри ботаніки.

## ТЕМА «ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИННОЇ КЛІТИНИ»

### Робота №1. Осмотичні властивості рослинної клітини.

**Мета:** Сформувані поняття про явище плазмолізу як прояв властивостей рослинної клітини, і залежність його ступеня від концентрації зовнішнього розчину та внутрішнього розчину клітини.

**Завдання:**

- 1) оволодіти вмінням порівнювати показники осмотичного тиску клітинного соку різних рослин;
- 2) навчитися визначати всисну силу рослинних клітин через зміну концентрацій розчинів, що з ними контактують;
- 3) оволодіти методикою роботи з рефрактометром.

**Література:**

1. Фізіологія рослин: Практикум /за ред.проф. М.М. Мусієнка. – К.: Вища школа, 1995. – 191 с. робота №5, 6, 10.
2. Практикум по фізіології рослин /под ред. Н.Н. Третьякова. – М., 1991. – 271 с.: робота № 10, 11.
3. Негода О.В. Лабораторний практикум з дисципліни „Фізіологія рослин”. – Київ, 2003. – 112 с.: робота №6.

**До заняття:** письмово дати визначення поняттям:

Плазмалемма - \_\_\_\_\_

Тонoplast - \_\_\_\_\_

Плазмоліз - \_\_\_\_\_

Осмотичний тиск клітинного соку - \_\_\_\_\_

Всисна сила клітин рослини - \_\_\_\_\_ - \_\_\_\_\_

Тургорний тиск клітинного соку - \_\_\_\_\_

### Завдання 1. Визначення осмотичного тиску клітинного соку методом плазмолізу.

**Пояснення:** Рослинна клітина поглинає воду із зовнішнього середовища і віддає її. Напрямок і швидкість току води визначається осмотичними властивостями клітини: осмотичним потенціалом (P), водним потенціалом (Ψ), сисною силою (S), тургорним тиском (T), які проявляються в процесі осмосу.

Процес втрати та поглинання води клітиною в режимі реального часу можна спостерігати на прикладі явища плазмолізу і деплазмолізу. При зануренні клітин в гіпертонічний розчин (концентрація його вища, ніж вакуолярного соку всередині клітини) він починає відбирати, витягати воду з вакуолі. Об'єм вакуолі зменшується, і шар цитоплазми, раніше притиснутий вакуолею до клітинної оболонки, відстає від неї. Між живою ще цитоплазмою і клітинною стінкою з'являються порожнини, добре помітні на тимчасових анатомічних препаратах.

Процес плазмолізу краще спостерігати на об'єктах із яскраво забарвленим клітинним соком, або підфарбовувати препарат реактивами, що мінімально впливають на властивості цитоплазми клітин (нейтральний червоний).

**Об'єкт:** цибулина цибулі городньої (*Allium cepa*), що містить антоціан.

**Матеріали та обладнання:** оптичний мікроскоп, пробірки, скляні мірні пальчики на 10 мл, предметні та покривні скельця, серветки, стаканчики на 100 мл, піпетки, бюретки, порцелянові чашки, картонні кришки для чашечок, препарувальні голки, леза, канцелярські паперові наліпки, 1М (одномолярний) розчин сахарози (342 г цукру на 1 л дистильованої води), дистильована вода.

## Хід роботи

Використовуючи стандартний 1М розчин сахарози та дистильовану воду, в пробірках шляхом розведення готують по 10 мл розчинів з концентраціями від 0,9 до 0,1 М (схема розведення наведена в таблиці). Відбирають по 5 мл розчинів, включно з базовим розчином 1М, переливають у порцелянові чашки, прикриваючи їх картонними кришечками з позначенням концентрацій. Це допоможе зменшити випаровування та запобігти зміні концентрацій розчинів.

З епідермісу нижньої сторони листа цибулини готують 10 зрізів товщиною 2-3 клітини, так, щоб зберегти цілими забарвлені антоціаном клітини. Зрізи занурюють в порцелянову чашку з охолодженою кип'яченою водою.

Чашки ставлять в рядок по зменшенню концентрації. Далі, користуючись годинником (секундоміром), в кожний розчин занурюють з періодичністю у 2 хвилини по 1 зрізу епідерми, попередньо підсушивши їх фільтрувальним папером.

Через 30 хв. зрізи по черзі виймають з розчинів і розглядають під мікроскопом у краплині того розчину, в якому вони були. Визначають стан клітини, а саме – тургор або плазмоліз, і форму плазмолізу (рис. 1). Знаходять ізотонічну концентрацію розчину: цей показник є середнім значенням між тією концентрацією, що викликає слабкий кутувий плазмоліз, і такою, де плазмоліз ще не спостерігається.

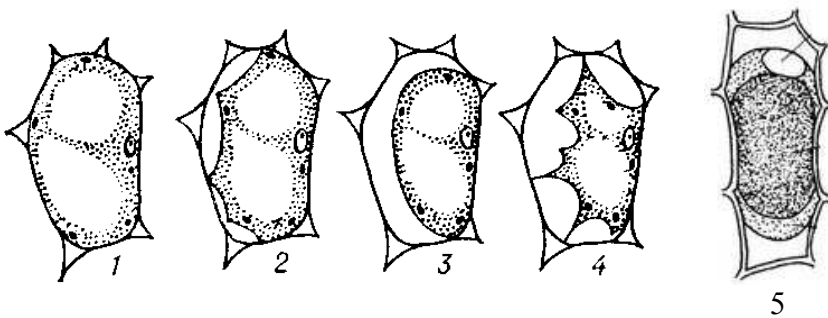


Рис. 1. Форми плазмолізу:  
1 – кутувий, 2 – увігнутий,  
3 – опуклий, 4 – судорожний,  
5 – ковпачковий

Стан клітин в кожному препараті фіксують в звітній таблиці, супроводжуючи кожен запис малюнком, що відображає зовнішній вигляд клітин на досліджуваних препаратах цибулі.

Встановивши ізотонічну концентрацію, розраховують показники осмотичного тиску клітинного соку об'єкта. Концентрація ізотонічного розчину дорівнює концентрації вакуолярного клітинного соку піддослідної рослини. Осмотичний тиск клітинного соку, відповідно, розраховують за формулою:

$$P = RTC_i,$$

де P - осмотичний тиск в Мегапаскалях (МПа), R – універсальна газова константа (0,00831 кДж/град\*моль), T – абсолютна температура (273 + кімнатна температура t°C), C – концентрація клітинного соку моль/л, i – ізотонічний коефіцієнт (коефіцієнт Ван-Гоффа).

Відзначити, при яких показниках зовнішнього розчину починається плазмоліз в клітинах цибулі. Розрахувати величину P для клітин цибулі.

Для розрахунків

**Звітна таблиця**

Концентр р-ну, М	Кількісний склад		Стан клітини (тургор або форма плазмолізу)	Клітини епідерми цибулини цибулі (малюнок)
	1 М р-ну сахарози	води		
1,0	10	0		
0,9	9	1		
0,8	8	2		
0,7	7	3		
0,6	6	4		
0,5	5	5		
0,4	4	6		
0,3	3	7		
0,2	2	8		
0,1	1	9		

Результат розрахунків відобразити у висновках.

**Висновки:**

---



---



---



---

**Завдання 2. Визначення осмотичного тиску клітинного соку за допомогою рефрактометра**

*Пояснення:* Рефрактометричний метод дозволяє швидко і більш точно визначити концентрацію клітинного соку, і за допомогою його – і осмотичний тиск. Метод ґрунтується на зміні показника заломлення поляризованого світла, коли воно (світло) проходить через розчин, розміщений між двома скляними призмами. концентрації. Таким чином, зокрема, є можливість визначити масову концентрацію клітинного соку (у %). Масова концентрація розчину переводиться у молярну, що дозволяє розрахувати осмотичний тиск піддослідного клітинного соку за спеціальною формулою.

Вважається, що основною речовиною, що забезпечує осмотичні властивості клітинного соку рослин, є сахароза. Дане твердження враховується при визначенні показників ізотонічного коефіцієнту.



Об'єкт: коренеплід моркви посівної (*Daucus carota* subsp. *sativus*), буряку столового (*Beta vulgaris*), бульба картоплі (*Solanum tuberosum*), плоди яблуні (*Malus domestica*), груші (*Pyrus*), апельсину (*Citrus x sinensis*).

Матеріали та обладнання: ручні преси (або металеві терки), чашки Петрі, порцелянові чашечки, марля, серветки, медичні піпетки, рефрактометр РПЛ-3 (рис. 2).

### Хід роботи:

З подрібненого об'єкту віджимають клітинний сік. Між призми рефрактометра наносять дві краплини клітинного соку. Дзеркалом наводять світло. Дивляться у окуляр, а ручку рефрактометра доводять до такого стану, поки в окулярі не стане добре видно межу між темною та світлою половинами поля зору. Дивляться, з яким показником концентрації (права шкала) співпадає поле зору. Процентну концентрацію клітинного соку перераховують у молярну за пропорцією наступним чином:

Припустимо, що показник рефрактометра для концентрації  $X$  складає 8%. Тоді у 1 л подібного розчину міститься 80 г сахарози. Молярну концентрацію клітинного соку розраховують за пропорцією, враховуючи, що у 1 л 1м розчину сахарози міститься 342 г речовини:

342 г у 1 л розчину – 1 М розчин, 80 г сахарози у 1 л розчину –  $X$  М розчин.

Отже:

$$X = \frac{80}{342} = 0,23M$$

Для піддослідних розчинів молярна концентрація розраховується так:

$$C_x = \frac{w * 10}{342}, \text{ де}$$

$C_x$  – молярна концентрація досліджуваного розчину, моль/л;  $w$  – масова концентрація розчину, визначена за допомогою рефрактометра, %.

Для кожного піддослідного рослинного об'єкту необхідно визначити масову концентрацію  $C_x$ , перерахувати її в молярну концентрацію  $C_m$  та визначити осмотичний тиск клітинного соку (за формулою, наведеною в завданні 1). Результати дослідження записати в таблицю.

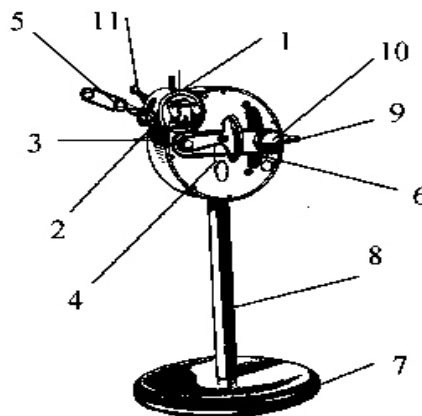


Рис. 2. Будова рефрактометра РПЛ-3: 1-1 верхня камера, 2-нижня камера, 3 – корпус приладу, 4 – дисперсійний лімб, 5 освітлювач, 6 – шкала приладу, 7 – основа приладу, 8 – стойка, 9 – руків'я, 10 – окуляр, 11 - штуцер

Для розрахунків

### Звітна таблиця

Об'єкт дослідження	Масова концентрація клітинного соку, %	Молярна концентрація клітинного соку, М	Осмотичний тиск, МПа

На основі отриманих даних розташувати піддослідні об'єкти в порядку зростання показників осмотичного тиску клітинного соку.

Висновки:

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### Завдання 3. Визначення висної сили клітин рослин рефрактометричним методом.

**Пояснення:** При зануренні рослинної тканини у розчин електроліту (NaCl) або неелектроліту (сахароза) певної концентрації одразу починається обмін водою між клітинами і розчином. Інтенсивність даного процесу та його напрямок залежить в першу чергу від величини висної сили (S) цитоплазми рослинних клітин. При цьому концентрація зовнішнього розчину змінюється. Зміна концентрації розчину веде за собою зміну показника заломлення, що можна визначити за допомогою рефрактометра. Той розчин, показник якого не змінився після досліду, буде ізотонічним по відношенню до клітинного соку у вакуолях клітин піддослідного об'єкту. У випадку використання в досліді розчину сахарози величина осмотичного потенціалу збігається з величиною висної сили:  $P=S$ . Враховуючи це, можна розрахувати висну силу рослинної клітини (S) за наступною формулою:

$$S=RTCi,$$

де R – універсальна газова константа (0,00831 кДж/град\*моль), T – абсолютна температура (273 + t°C), C – ізотонічна концентрація моль/л, i – ізотонічний коефіцієнт (коефіцієнт Ван-Гоффа), для розчину сахарози i = 1.

**Об'єкт:** листя пеларгонії садової (*Pelargonium hortorum*), гібіскуса китайського (*Hibiscus rosa-sinensis*), каланхое (*Kalanchoe*), рео (*Reo discolor*), традесканції (*Tradescantia*), хлорофітуму чубатого (*Chlorophytum comosum*) або інших кімнатних рослин.

**Матеріали та обладнання:** бюретки, воронки, скальпель, великий пінцет, довгі скляні палички, рефрактометр, штативи з великими і маленькими пробірками, скляні капілярні піпетки з поділками, препарувальні голки, леза, металеві трубчасті свердла (d=0,5 см), фільтрувальний папір, серветки, паперові канцелярські наліпки, спиртовий термометр для вимірювання температури повітря, 1 М розчин сахарози.

#### Хід роботи:

Готують розчини сахарози концентрацією від 0,9 до 0,1 М по 10 мл у великі пробірки. По 0,5 мл кожного розчину переносять піпеткою з поділками у малі пробірки. Рекомендується використовувати розчини, виготовлені для завдання №1. Свердлом роблять висічки (кружечки) з рослинного об'єкту, попередньо вирізавши з нього пластину завтовшки 1 мм, якщо листок піддослідного об'єкту занадто м'ясистий. У рослин з тонкими листками висікають кружечки безпосередньо з листової пластинки, уникаючи ділянок з товстими жилками.

По 3 кружечки занурюють у маленькі пробірки з розчинами різної концентрації. Стежать, щоб зрізи не спливали на поверхню.

Висічки з рослинних об'єктів залишають у розчинах на 40-60 хв. За цей час за допомогою рефрактометра визначають початковий показник заломлення розчинів з великих пробірок (до початку досліду). Аналогічним чином визначають показник заломлення розчину у маленьких пробірках після закінчення досліду.

Окремі робочі групи студентів працюють з різними рослинними об'єктами. За отриманими результатами знаходять ізотонічний розчин (різний для різних рослин), розраховують сисну силу. Результати досліду записують в таблицю (кожна робоча підгрупа – в свою).

**Звітна таблиця**

Об'єкт	Концентрація розчину, моль/л	Кількісний склад, мл		Величина коефіцієнту заломлення (%)		Ізотонічна конц., моль/л	Сисна сила, МПа
		1 М сахарози	води	До досліду	Після досліду		
	0,9	9	1				
	0,8	8	2				
	0,7	7	3				
	0,6	6	4				
	0,5	5	5				
	0,4	4	6				
	0,3	3	7				
	0,2	2	8				
	0,1	1	9				

На основі даних, отриманих різними робочими групами, заповнюють таблицю показників величини сисної сили у різних рослин (спільна таблиця).

Об'єкт дослідження	Орган	Сисна сила, МПа

Порівнюють отримані результати. Роблять висновок про те, всисна сила в яких об'єктах найвища, і яка з піддослідних рослин найбільш успішно може поглинати воду з ґрунту.

**Висновки:**

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

**Контрольні запитання:**

1. Що таке осмос, його відмінність від дифузії?
2. Від яких зовнішніх факторів і внутрішніх умов залежить осмотичний тиск клітинного соку?
3. Що таке ізотонічна, гіпотонічна, гіпертонічна концентрація клітинного соку?
4. Написати формулу, за якою можна розрахувати осмотичний тиск.
5. Що таке ізотонічний коефіцієнт? Від чого залежить його величина?
6. Якими фізичними величинами характеризується сила осмотичного тиску?
7. Який осмотичний показник є основним при надходженні води в клітину осмотичним шляхом?
8. Яка органічна сполука є найважливішою для забезпечення осмотичних властивостей рослинних клітин? Поясніть відповідь
9. Яка існує залежність між S, P, T? Як її можна відобразити графічно?

Дата захисту \_\_\_\_\_ Оцінка \_\_\_\_\_ Підпис викладача \_\_\_\_\_

## Робота №2. Ступінь проникності цитоплазми рослинної клітини

**Мета:** Сформувати уявлення про вплив зовнішніх та внутрішніх умов на проникність цитоплазми клітини.

**Завдання:**

- 1) визначити ступінь проникності цитоплазми живих клітин та таких, що зазнали температурних чи хімічних пошкоджень;
- 2) порівняти проникність цитоплазми у різновікових клітин листка водної рослини;
- 3) навчитися визначати показники проникності цитоплазми живих і мертвих рослинних клітин;
- 4) порівняти вплив на проникність цитоплазми рослинної клітини одновалентних та двовалентних катіонів.

**Література:**

1. Фізіологія рослин: Практикум /за ред.проф. М.М. Мусієнка. – К.: Вища школа, 1995. – 191 с. робота №23.
2. Практикум по физиологии растений /под ред. Н.Н. Третьякова. – М., 1991. – 271 с.: робота № 1, 3, 4.
3. Векирчик К.Н. Физиология растений. Практикум. – К.: Высшая школа, 1984. – 240 с.: робота №4, 6, 7.

**До заняття:** письмово дати визначення поняттям:

Цитоплазма - \_\_\_\_\_

Протоплазма - \_\_\_\_\_

Вибіркова проникність - \_\_\_\_\_

Деплазмоліз - \_\_\_\_\_ - \_\_\_\_\_

### Завдання 1. Порівняння проникності живої та мертвої цитоплазми.

**Пояснення:** Цитоплазма живої клітини здатна утримувати речовини, що містяться у клітинному соку, завдяки властивій їй вибіркості. При пошкодженні клітини високою температурою, міцними кислотами або іншими факторами цитоплазма втрачає цю властивість, і складові клітинного соку вільно виходять в навколишнє середовище. Ступінь пошкодження рослинних клітин прямо пропорційна кількості речовини, що виділяється у зовнішнє середовище. Таким чином, інтенсивність (яскравість) забарвлення розчину в пробірці – критерій пошкодження клітинних мембран досліджуваних рослинних об'єктів.

**Об'єкт:** коренеплід червоного столового буряку (*Beta vulgaris*).

**Матеріали та обладнання:** пробірки, штативи, сірники, хлороформ, 30% оцтова кислота, 50% етиловий спирт, мензурки, мікроскоп, спиртівка, 1 М розчин  $\text{KNO}_3$ , вода (дистильована 30 мл, охолоджена кип'ячена – 200 мл).

#### Хід роботи:

З очищеного коренеплоду червоного буряку нарізають однакові прямокутні брусокчи довжиною 20 мм, шириною 5 мм, товщиною до 2 мм. Промивають водою. У 5 пробірок наливають розчини за схемою: пробірка №1 – 10 мл  $\text{H}_2\text{O}$ , пробірка №2 – 10 мл  $\text{H}_2\text{O}$ , пробірка №3 – 10 мл  $\text{H}_2\text{O}$  + 0,5 мл хлороформу, пробірка №4 – 10 мл 30% оцтової кислоти, пробірка №5 – 10 мл 50% етилового спирту.

У всі пробірки, крім другої, кидають по 2 брусокчи буряку. Два брусокчи окремо кип'ятять у воді в порцеляновій чашці протягом 2 хвилин, а потім кидають у пробірку №2. Дослід залишають на 30 хв. Потім струшують пробірки і відзначають інтенсивність забарвлення розчинів: сильне, середнє, слабке, забарвлення відсутнє; звертають увагу на градацію відтінків. Розчини колориметрують на фотоелектроколориметрі ФЕК-2 із зеленим світлофільтром (розчинник для порівняння – кип'ячена охолоджена вода). За величиною

екстинкції (показник відхилення по червоній шкалі правого барабану) роблять висновок про рівень пошкодження рослинної тканини під дією досліджених факторів.

Виймають брубочки коренеплоду буряку, готують зрізи з торцевих частин так, щоб в зріз потрапили забарвлені клітини. Зрізи кладуть на предметне скло у краплю 1М розчину  $KNO_3$ , покривають покривним склом і розглядають під оптичним мікроскопом під малим і великим збільшенням. Плазмоліз свідчить, що клітина жива, відсутність плазмолізу – що вона мертва.

Результати досліду оформити у вигляді таблиці, відзначивши інтенсивність забарвлення розчинів так: «-» розчин не забарвлений, «+» розчин зі слабо помітним рожевим відтінком, «++» світло-рожевий розчин, «+++» рожевий, темніший за попередній, «++++» малиновий, червоний, «+++++» інтенсивно-малиновий (червоний) до густо-пурпурового. Також у відповідній комірці таблиці фіксують кольоровими олівцем колір та інтенсивність забарвлення розчину.

**Звітна таблиця**

	Варіанти досліди				
	Вода 10 мл	Вода 10 мл (після кип'ятіння)	10 мл $H_2O$ + 0,5 мл хлороформу	10 мл 30% оцтової кислоти	10 мл 50% етилового спирту
Інтенсивність кольору розчину в пробірці					
Величина екстинкції на колориметрі					
Малюнки препаратів					

На основі інтенсивності забарвлення розчину у кожній з п'яти пробірок, а також з урахуванням наявності або відсутності плазмолізу в препаратах, слід зробити висновок про силу пошкодження рослинної тканини під дією досліджених факторів. Пояснити, які складові клітинних мембран (білки, ліпіди, вуглеводи тощо) пошкоджуються під впливом кожного з досліджених несприятливих факторів.

**Висновки:**

---



---



---



---



---



---



---



---



---



---



---



---



---



---



---



---



---



---

**Завдання 2. Визначити проникність цитоплазми у клітин різного віку.**

**Пояснення:** Проникність (швидкість проходження речовин крізь цитоплазматичну мембрану) для більшості розчинених речовин є малою, але деякі (сечовина) проходять дуже швидко. При зануренні клітин в гіпертонічний розчин сечовини спостерігається плазмоліз – внаслідок втрачання води клітинами. Однак при тривалому перебуванні в розчині молекули плазмолітику поступово проникають до вакуолі, концентрація клітинного соку зростає, і вода надходить до клітини – спостерігається деплазмоліз. Проміжок часу від занурення у розчин до кінця деплазмолізу є показником проникності цитоплазми для сечовини. Чим швидше відбуваються обидва процеси, тим вищим є рівень проникності цитоплазми і нижчою – вибірковість.

Проникність цитоплазми, в свою чергу, залежить від внутрішніх умов, в тому числі від її в'язкості. Різновікові клітини мають різну в'язкість цитоплазми, по-різному будуть пропускати речовини зовнішнього розчину. Як правило, у молодих клітин в'язкість вища, вони гірше пропускають речовини і довше входять в стан плазмолізу.

**Об'єкт:** жива рослина елодеї канадської (*Elodea canadensis*).

**Матеріали та обладнання:** оптичний мікроскоп, предметні та покривні скельця, препарувальні голки, пінцети, вазелін, 1 М розчин сечовини (CH<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O).

### Хід роботи:

Листок елодеї, що не закінчив ріст (з верхівки), кладуть на предметне скло у краплю 1М розчину сечовини, накривають покривним склом і розглядають під малим збільшенням мікроскопу. Приблизно через 5 хв. в клітинах починається плазмоліз. Краї покривного скельця змазують вазеліном і продовжують спостерігати за плазмолізом і деплазмолізом в клітинах основи (молоді, слабо забарвлені клітини) та верхівки листка (старі дозрілі клітини інтенсивно зеленого кольору), перевіряючи препарат кожні 3-5 хвилин протягом 15-20 хвилин.

Тривалість плазмолізу і деплазмолізу вказує на проникність цитоплазми різновікових клітин.

Результати досліду записати в таблицю.

### Звітна таблиця

Вік клітин	Час занурення препарату в розчин сечовини	Плазмоліз		Тривалість плазмолізу, хв.	Деплазмоліз		Тривалість деплазмолізу, хв
		Початок, год, хв.	Закінчення, год., хв.		Початок, год., хв.	Закінчення, год., хв.	
Молода (основа листка)							
Стара (верхівка листка)							

Препарати непошкоджених, плазмолізованих і деплазмолізованих клітин листка елодеї замалювати (рис. 3).

А

Б

В

**Рис. 3.** Клітини листка *Elodea canadensis*: А – до початку досліду; Б – в процесі плазмолізу; В – по завершенні деплазмолізу.

На основі отриманих результатів зробити висновок про те, як показник проникності цитоплазми залежить від віку рослинної клітини.

**Завдання 3. Накопичення фарби у вакуолях клітин епідермісу цибулини цибулі.**

**Пояснення:** Важлива здатність цитоплазми – вибіркова проникність. Жива цитоплазма пропускає окремі барвники у вакуолю і фарбує її. Вакуолі відмерлих клітин не зафарбовуються, зафарбовується тільки цитоплазма і ядро. Тобто на препараті центральна частина клітини має бути майже незабарвленою. Проникнення крізь всі три шари цитоплазми називається наскрізною проникністю. Якщо використовується нейтральний червоний (він є індикатором), то можна визначити рН клітини. Інтервал зміни забарвлення (інтервал переходу) і нейтрального червоного відбувається при рН=6,8; в слабко-кислому середовищі він зафарбовується в малиновий колір, в сильно-кислому – у червоний, лужне середовище викликає зсув забарвлення у жовту частину спектру – від оранжевого (слабколужне) до яскраво-жовтого (сильнолужне).

Цей індикатор здатен проникати в живі клітини і накопичуватися в них у великій кількості, при цьому цитоплазма живих клітин не відмирає. Це можна додатково підтвердити за допомогою явища плазмолізу.

**Об'єкт:** цибулина цибулі городньої (*Allium cepa*) без антоціану.

**Матеріали та обладнання:** мікроскоп, скальпель, пінцет, предметне та покривне скло, лезо, 0,002-0,005% розчин нейтрального червоного, 1 М розчин  $\text{KNO}_3$ , спиртівки, препарувальні голки.

**Хід роботи:**

Шматок епідермісу з внутрішньої (опуклої) сторони луски цибулини цибулі кладуть на предметне скло у краплю розчину нейтрального червоного. Під малим, а потім під великим збільшенням спостерігають за препаратом під мікроскопом. Через 10 хв. барвник накопичується у вакуолі і зафарбовує центр клітини у малиновий колір (вказує на слабко кислу реакцію). Фільтрувальним папером відсмоктують барвник з-під покривного скла і вводять розчин  $\text{KNO}_3$ . Плазмоліз клітин і накопичення у вакуолі фарби малинового кольору свідчить про те, що клітини живі.

Других шматок епідермісу в краплині води нагрівають над спиртівкою на предметному склі до закипання, після чого повторюють дослід з нейтральним червоним. Якщо цитоплазма і ядро відмерлих клітин зафарбовується у оранжево-жовтий колір, це свідчить про лужний рН цитоплазми. При додаванні плазмоліз не відбувається, це свідчить про те, що клітини мертві.

Замалювати зафарбовані живі і мертві клітини (після додавання розчину  $\text{KNO}_3$ ), підписати малюнки. Відзначити наявність чи відсутність плазмолізу.

**А**

**Б**

**Рис. 4. Зафарбовані живі (А) та мертві (Б) клітини *Allium cepa* після обробки розчином  $\text{KNO}_3$ .**

Зробити висновок про ступінь проникності та рівень рН живих і мертвих клітин. Пояснити, в яких органодах накопичується барвник в живих і в мертвих клітинах, підтвердивши вказівкою на різне забарвлення індикатору та наявність чи відсутність плазмолізу.

Висновки:

---

---

---

---

---

---

---

---

**Завдання 4. Дослідження впливу іонів кальцію і калію на в'язкість цитоплазми.**

**Пояснення:** Йони, які підвищують ступінь гідратації колоїдів ( $K^+$ ) збільшують проникність цитоплазми. Йони, що мають коагулюючу дію ( $Ca^{2+}$ ), викликають дегідратацію білку, зменшення пор мембран і зниження швидкості надходження речовин до клітини. Відтак, в'язкість цитоплазми відповідно зменшується або збільшується. Простежити це можна, порівнявши тип плазмолізу, що викликають одномолярні розчини різних солей. Про в'язкість цитоплазми можна дізнатися за формою плазмолізованого протопласта клітини: за підвищеної в'язкості він погано відходить від клітинної стінки, утворюючи протягом тривалого часу увігнуті поверхні (увігнутий плазмоліз), якщо ж в'язкість цитоплазми знижена (цитоплазма розріджена), кутовий і увігнутий плазмоліз швидко переходить в опуклий, а згодом в ковпачковий. Показником процесу також є час плазмолізу (проміжок від занурення тканини в розчин плазмолітика до настання опуклого плазмолізу).

**Об'єкт:** Об'єкт: цибулина цибулі городньої (*Allium cepa*) з антоціаном.

**Матеріали та обладнання:** оптичний мікроскоп, порцелянові чашки, лезо, препарувальна голка, предметні та покривні скельця, 1М розчин  $KNO_3$ , 1М розчин  $Ca(NO_3)_2$ .

**Хід роботи:**

Виготовляють зріз з нижнього епідермісу лусочки цибулини, в якому є антоціан. Зрізи занурюють у 1 М розчини  $KNO_3$  та  $Ca(NO_3)_2$ , попередньо налиті в порцелянові чашки, по 5 мл кожен. Препарати залишають у розчині на 30-60 хв. Після цього їх розглядають у мікроскоп, в краплинах тих самих розчинів. Спостерігають дві форми плазмолізу: в розчині  $KNO_3$  – опуклий та ковпачковий, в розчині  $Ca(NO_3)_2$  – увігнутий або судорожний.

Препарати замалювати, підписати, вказавши тип плазмолізу.

А

Б

**Рис. 5. Плазмолізовані клітини *Allium cepa*, оброблені:**

А – розчином  $KNO_3$ , тип плазмолізу – \_\_\_\_\_;

Б – розчином  $Ca(NO_3)_2$ , тип плазмолізу – \_\_\_\_\_.

Пояснити вплив іонів калію і кальцію на в'язкість цитоплазми, і відповідно, на зміну її проникності.

Висновки:

---

---

---

---

---

---

---

---



---

---

---

---

**Контрольні запитання:**

1. Які основні властивості притаманні цитоплазмі?
2. Чи пропускає жива цитоплазма речовини клітинного соку?
3. Чому при дії на живу клітину з антоціаном високої температури, оцтової кислоти, хлороформу чи спирту змінюється колір зовнішнього розчину, що контактує з клітиною?
4. Яке значення має напівпроникність цитоплазми в житті клітини, і чим вона зумовлена?
5. Про що свідчить поява яскраво забарвлених гранул в цитоплазмі при забарвленні клітин нейтральним червоним?
6. Який тип плазмолізу утворюється в клітинах при дії калію і кальцію? Чому?
7. Що свідчить про різну проникність іонів калію крізь плазмалему і тонопласт?
8. Поясніть процеси, що відбуваються у цитоплазмі при її набряканні.
9. В чому полягає фізіологічна доцільність різної проникності плазмалеми і тонопласта?

Дата захисту \_\_\_\_\_ Оцінка \_\_\_\_\_ Підпис викладача \_\_\_\_\_

### Робота №3: Рух цитоплазми в клітинах

Мета: Сформувати уявлення про вплив на рух цитоплазми зовнішніх і внутрішніх умов.

Завдання:

- 1) дослідити, як на рухи цитоплазми живих клітин впливають високі та низькі позитивні температури;
- 2) дослідити, як змінюється рухомість цитоплазми рослинних клітин під впливом макроергічних сполук та деяких антропогенних забрудників ґрунту.

Література:

Фізіологія рослин: Практикум /за ред.проф. М.М. Мусієнка. – К.: Вища школа, 1995. – 191 с. робота №1.

До заняття: письмово дати визначення поняттям:

Циклоз - \_\_\_\_\_

Мікрофіламенти - \_\_\_\_\_

Ротаційний рух цитоплазми - \_\_\_\_\_

Струменевий рух цитоплазми - \_\_\_\_\_

Коливальний рух цитоплазми - \_\_\_\_\_

#### Завдання 1. Встановлення впливу температури на рух цитоплазми в рослинних клітинах.

**Пояснення:** Рух цитоплазми можна виявити в будь-яких живих і функціонуючих клітинах рослин. Спостерігати дане явище можна, в основному, по пересуванню в межах клітини добре помітних включень або органодів, таких як хлоропласти. Швидкість і характер руху сильно залежать від різних зовнішніх і внутрішніх факторів, зокрема, від температури.

**Об'єкт:** жива рослина елодеї канадської (*Eloдея canadensis*) або валіснерії спіральної (*Vallisneria spiralis*)

**Матеріали та обладнання:** мікроскопи, предметні скельця, накривні скельця, пінцети, термостійкі колби на 100 мл, хімічні склянки, набір пробірок, лід, вода, спиртові термометри, окуляр-мікрометр МОВ–1–15<sup>x</sup>.

#### Хід роботи:

Готують препарат листка елодеї. Для цього недалеко від верхівки відривають листок і вміщують у краплину води при кімнатній температурі на предметному склі. При малому збільшенні знаходять клітину біля центральної жилки або клітину по краю листка, де помітний рух хлоропластів (це є показником руху цитоплазми). Переводять мікроскоп на велике збільшення і, користуючись окуляр-мікрометром, встановлюють швидкість руху цитоплазми, у мікрометрах за одиницю часу (мкм/хв), відзначаючи температуру в приміщенні (20-25°C).

В двох великих хімічних склянках готують воду, охолоджену до 5-10°C (шляхом додавання холодної води та льоду) та воду, нагріту до 40-45°C (шляхом нагрівання склянки на водяній бані та додавання холодної води). В обидві склянки ставлять пробірки з водою, в які вміщені гілочки елодеї (або листки валіснерії), та предметні скельця, на яких будуть виготовляти препарати. Витримують піддослідні рослини у воді протягом 30-40 хвилин, підтримуючи температуру на постійному рівні.

По завершенні часу виймають зі склянок предметні скельця, роблять на них препарати листків охолоджених (або нагрітих) рослин елодеї, використавши воду з пробірок. Під

мікроскопом розглядають клітини елодеї, за допомогою окуляр мікрометра визначають швидкість руху цитоплазми (мкм/хв). Результати спостережень вносять до звітної таблиці:

Об'єкт дослідження	Температура, °С	Швидкість руху цитоплазми, мкм/хв

Роблять висновок про вплив температури на швидкість руху цитоплазми живих клітин.

Висновки:

---



---



---



---



---

## Завдання 2. Вплив окремих хімічних речовин на рух цитоплазми в рослинних клітинах.

*Пояснення:* Швидкість і характер руху цитоплазми, який можна спостерігати по переміщенню хлоропластів, можна змінити, впливаючи на рослинну клітину різними речовинами. Так, джерелом енергії для руху цитоплазми є аденозинтрифосфат (АТФ). Рушійна сила виникає у цитоплазмі, де відбувається гліколіз, тобто саме цей процес є постачальником енергії для руху цитоплазми.

Гальмують швидкість руху інші речовини, що є інгібіторами чи роз'єднувачами дихання (пестициди, важкі метали) що також є підтвердженням енергозалежності руху цитоплазми в клітині.

*Об'єкт:* жива рослина елодеї канадської (*Eloдея canadensis*) або валіснерії спіральної (*Vallisneria spiralis*)

*Матеріали та обладнання:* мікроскопи, предметні скельця, накривні скельця, пінцети, піпетки, окуляр-мікрометр,  $5 \times 10^{-3}$  М розчин АТФ,  $5 \cdot 10^{-4}$  М розчин 2,4-динітрофенолу (або ДНП-вмісного гербіциду), концентровані розчини солей двовалентних металів (цинку, кобальту, купруму, хрому) та заліза.

### Хід роботи:

Готують препарат листка елодеї. Для цього недалеко від верхівки відривають листок і вміщують у краплину води при кімнатній температурі на предметному склі. При малому збільшенні знаходять клітину біля центральної жилки або клітину по краю листка, де помітний рух хлоропластів (це є показником руху цитоплазми). Переводять мікроскоп на велике збільшення і, користуючись окуляр-мікрометром, встановлюють швидкість руху цитоплазми, у мікрометрах за одиницю часу.

З однієї сторони накривного скельця наносять краплину розчину АТФ, одночасно відтягуючи фільтрувальним папером воду з іншої сторони. Через 5 хвилин після повного заміщення води на розчин АТФ повторно вимірюють швидкість руху цитоплазми.

Розчин АТФ під покривним склом замінюють на розчин динітрофенолу (або на інший гербіцид) і через 5 хвилин заміряють швидкість руху хлоропластів.

**2,4-динітрофенол є сильною отрутою, тому при роботі з ним слід суворо дотримуватися правил техніки безпеки!**

Повторюють дослід, замінюючи воду в тимчасовому препараті на розчини двовалентних металів або на розчин трихлористого заліза. Вимірюють швидкість руху цитоплазми. Результати спостережень вносять до звітної таблиці:

Об'єкт дослідження	Реагент	Швидкість руху цитоплазми, мкм/хв

Роблять висновок про вплив різних речовин на рух цитоплазми живих клітин.

Висновки:

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

**Контрольні запитання:**

1. Яке фізіологічне значення має рух цитоплазми в рослинних клітинах?
2. Чи рухається цитоплазма мертвих клітин? Відповідь аргументуйте.
3. Які типи руху цитоплазми ви знаєте? В чому між ними подібність і відмінність?
4. Якою є залежність між швидкістю руху і в'язкістю цитоплазми?
5. Які особливості структури клітин визначає наявність в цій клітині того чи іншого типу руху цитоплазми?
6. Що є джерелом енергії для процесу руху цитоплазми?

Дата захисту \_\_\_\_\_ Оцінка \_\_\_\_\_ Підпис викладача \_\_\_\_\_

## КОЛОКВІУМ «ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИННОЇ КЛІТИНИ»

Теоретичні питання, винесені на співбесіду:

1. Предмет і завдання фізіології рослин. Основні етапи розвитку науки про фізіологію рослин. Напрямки досліджень в сучасній фізіології рослин.
2. Етапи становлення фізіології рослин в Україні.
3. Методи дослідження в фізіології рослин на різних рівнях організації рослини.
4. Хімічний склад рослинної клітини: вміст, склад та фізіологічне значення амінокислот і білків.
5. Хімічний склад рослинної клітини: вміст, склад та фізіологічне значення нуклеотидів та нуклеїнових кислот.
6. Хімічний склад рослинної клітини: вміст, склад та фізіологічне значення ліпідів та органічних кислот.
7. Хімічний склад рослинної клітини: вміст, склад та фізіологічне значення вуглеводів.
8. Клітина – основна структурна та функціональна одиниця живих організмів. Особливості будови рослинної клітини порівняно з клітинами тварин і грибів.
9. Будова та фізіологічне значення одномембранних органодів рослинної клітини.
10. Будова та фізіологічне значення двомембранних органодів рослинної клітини.
11. Будова та фізіологічне значення немембранних органодів рослинної клітини.
12. Цитоплазма рослинної клітини. Склад, фізико-хімічна організація, властивості.
13. Основні властивості цитоплазми як колоїдної системи: в'язкість, еластичність, ізоелектрична точка, проникність.
14. Вплив зовнішніх умов на основні властивості цитоплазми.
15. Проникність цитоплазми. Вплив зовнішніх умов на проникність.
16. Клітинна стінка. Її хімічний склад, будова, властивості. Фізіологічна роль клітинної стінки.
17. Вакуоля. Структурні компоненти, хімічний склад. Фізіологічна роль вакуолі рослинної клітини.
18. Мембрани рослинних клітин: будова, склад, функції.
19. Транспортна функція мембран рослинної клітини. Механізм пасивного та активного надходження речовин в рослинну клітину.
20. Осмотичні властивості рослинної клітини. Осмотичний тиск. Тургорний тиск. Сисна сила.

### Перелік рекомендованої літератури для самопідготовки:

1. Мусієнко М.М. Фізіологія рослин. – К.: Вища школа, 1995. – 503 с.
2. Мусієнко М.М. Фізіологія рослин. – К.: Фітосоціоцентр, 2001. – 392 с.
3. Брайон О.В, та ін. Фізіологія рослин. Практикум. К.: Вища школа, 1995.
4. Иванов В.П. и др.. Практикум по физиологии растений. – М.: АКАДЕМ, 2001.
5. Куперман Ф.М. Морфофизиология растений. – М.: Высшая школа, 1997. – 287 с.
6. Полевой В.В., Саламатова Т.С. Физиология роста и развития растений. – Л.: Издательство ЛГУ, 1991. – 238 с.
7. Полевой В.В. Физиология растений. – М.: Высшая школа, 1989. – 464 с.
8. Якушкина Н.И. Физиология растений. – М.: Просвещение, 1993. – 351 с.

## ТЕМА «ВОДНИЙ РЕЖИМ РОСЛИН»

### Робота №4. Надходження та пересування води рослиною

*Мета:* сформувати вміння визначати кількісні показники руху води по тканинам рослин

*Завдання:*

- 1) Навчитися визначати швидкість поглинання води різними рослинами, встановити закономірності проходження процесу за різних умов;
- 2) поспостерігати підняття води по провідним тканинам рослини

*Література:*

1. Негода О.В. Лабораторний практикум з дисципліни «Фізіологія рослин» для студентів аграрних університетів. – К.: Фітосоціоцентр, 2003. – 112 с. Робота №9

*До заняття:* письмово дати визначення поняттям:

Кореневий тиск – \_\_\_\_\_

Адгезія – \_\_\_\_\_

Когезія – \_\_\_\_\_ - \_\_\_\_\_

Ксилема – \_\_\_\_\_

Флоема – \_\_\_\_\_

### *Завдання 1. Визначення швидкості поглинання води рослиною.*

*Пояснення:* Поглинання води рослиною та пересування її по рослині відбувається в результаті спільної дії таких факторів, як кореневий тиск («нижній кінцевий двигун») та транспірація («верхній кінцевий двигун»). Основним органом транспірації є листок. На першому етапі транспірації відбувається пересування води з жилок листків у поверхневі шари клітин мезофілу. На другому етапі – відбувається випаровування води крізь стінки в продихові порожнини та міжклітинний простір. Після цього водяна пара переміщується крізь продихи в атмосферу або вода випаровується зі стінок клітин епідермісу в навколишнє середовище за допомогою кутикулярної транспірації.

Спрощено механізм дії верхнього кінцевого двигуна можна дослідити за допомогою пристрою, що носить назву потометр.

*Об'єкт:* гілки піддослідних кімнатних рослин – пеларгонії садової (*Pelargonium hortorum*), каланхое (*Kalanchoe*), рео (*Peo discolor*), традесканції (*Tradescantia*), бегонії вічноквітучої (*Begonia x semperflorens-cultorum*) або інших кімнатних рослин.

*Матеріали та обладнання:* потометр, барвник метиленовий синій, 30% оцтова кислота, пластилін, секундомір, штатив із затискачем для пробірок, міліметровий папір, вода, кристалізатор з водою, гострі ножиці або скальпель (для підрізання гілок), термометр, водяна баня, термостійка колба з водою, шприци на 5 мл (без голок).

#### **Хід роботи:**

Відібрані піддослідні рослини вмонтовують у пробки потометрів так, щоб нижній кінець виступав на 4-5 см. Загерметизувати місце контакту гілки і пробки пластиліном.

Заповнити потометри водою кімнатної температури (20-25°C), додати кілька крапель метиленового синього. В кристалізаторі з водою поновити зріз піддослідної гілки на 1-2 см, щоб прибрати з судин пухирці повітря, і швидко закрити пробкою з гілкою резервуар потометра. Положення меніска води при цьому повинно сягати краю потометра.

Фіксується час початку досліду, положення меніска води в капілярній трубці. Дані заносяться в таблицю.

Швидкість переміщення меніску перевіряється двічі на одному приладі, обчислюється середнє переміщення за певний час.

Об'єкт	Варіант досліджу	Поглинання води рослиною		Висновки
		Час (год.хв.)	Показники переміщення меніску, см	
	1			
	2			
	1			
	2			
	1			
	2			
	1			
	2			

Відносна швидкість поглинання води транспіруючою гілкою визначається за формулою:

$$V = \frac{A}{t}$$

Де V – відносна швидкість поглинання води рослиною, см/хв, А – шлях, см; t – час, хв.

Результати розрахунків вносять у колонку «Висновки»

Дослід повторюють, додаючи попередньо у резервуар потометра 1 мл розчину оцтової кислоти. Дані заносяться в таблицю.

Обчислюють відносну швидкість поглинання води рослиною за змінених умов, дані заносять в колонку «Висновки»

Об'єкт	Варіант досліджу	Поглинання води рослиною		Висновки
		Час (год.хв.)	Показники переміщення меніску, см	
	1			
	2			
	1			
	2			
	1			
	2			
	1			
	2			

Резервуар потометра заповнюють водою з t=50°C. Дослід повторюють. Дані замірів переміщення води в трубці заносяться в таблицю.

Обчислюють відносну швидкість поглинання води рослиною за змінених умов.

Об'єкт	Варіант досліджу	Поглинання води рослиною		Висновки
		Час (год.хв.)	Показники переміщення меніску, см	
	1			
	2			
	1			
	2			
	1			
	2			
	1			
	2			

Потометр замальовують, окремі частини приладу підписують.

### **Рис. 6. Портативний лабораторний потометр.**

Роблять висновок щодо залежності швидкості поглинання води різними рослинами, залежності швидкості процесу від кислотності рідини та від її температури.

Висновки:

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### **Завдання 2. Підняття води по рослині.**

*Пояснення:* Вода просувається від кореня до листя (висхідна течія) по ксилемі, основними елементами якої є витягнуті мертві клітини. При наявності у водному розчині барвника (чорнило, метиленовий синій, акриловий червоний) він піднімається по стеблу, зафарбовуючи у відповідний колір елементи провідної системи. Таким чином можна об'єктивно оцінити швидкість руху рідини по провідним тканинам.

*Об'єкт:* бальзамін Уоллера (*Impatiens walleriana*), традесканція ампельна (*Tradescantia*), бегонія вічноквітуха (*Begonia x semperflorens-cultorum*), колеус Блюма (*Plectranthus scutellarioides*) (чи інша кімнатна рослина з напівпрозорими стеблами, що не мають яскравого забарвлення).

*Матеріали та обладнання:* мікроскоп, лезо, предметні та покривні скельця, серветки для протирання скельця, фільтрувальний папір, вода, чорнило або розчин барвника (метиленовий синій, акриловий червоний), склянка на 100 мл або невелика колба з широким горлом, лінійка.

### **Хід роботи:**

Гілочку піддослідної кімнатної рослини підрізають під водою і ставлять в склянку з підфарбованою водою на 2-3 години. Виймають рослину, заміряють її висоту (як суму довжини кожного міжвузля окремо), далі роблять ряд поперечних зрізів через стебло на відстані 5 мм один від одного (починаючи з нижнього зрізу), роздивляються їх під мікроскопом.

Наявність на зрізі забарвлених барвниками судин (виглядають на препаратах як кольорові кільця) свідчить про наявність в них води, що піднялася по стеблу з посудини. Визначивши висоту підняття води по стеблу і розділивши її на час досліду, знаходять швидкість її руху для даної рослини за даних умов температури і освітлення, у см/год.

Замалювати зріз через стебло піддослідної рослини, позначивши забарвлені елементи ксилеми (судини).



**Рис. 11 Зріз через стебло \_\_\_\_\_ із судинами, забарвленими пігментом.**

Роблять висновок про те, з якою швидкістю піднімається вода по стеблах піддослідних рослин за кімнатної температури (*вказати*) в умовах лабораторії.

Висновки:

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

**Контрольні запитання:**

1. Дайте визначення транспірації. Поясніть хід транспірації протягом доби.
2. Що лежить в основі нижнього та верхнього кінцевого двигуна водного току рослин?
3. Від дії яких факторів залежить швидкість поглинання води рослиною?
4. Що забезпечує безперервний потік води по рослині? Поясніть явище адгезії і когезії.
5. Як відбувається водообмін між ксилемою та флоемою в рослин загалом?
6. Описати шлях води від крапель дощу, що потрапив в ґрунт, до водяної пари, яка виходить в повітря через продихи.
7. Які біохімічні процеси та фізичні сили керують вищеописаним рухом води?

Дата захисту \_\_\_\_\_ Оцінка \_\_\_\_\_ Підпис викладача \_\_\_\_\_

## Робота №5. Транспірація. Рух продихів.

**Мета:** сформувати поняття про рух продихових клітин як важливу умову проходження процесу транспірації

**Завдання:**

- 1) Поспостерігати за рухом продихів;
- 2) Навчитися визначати ступінь відкритості продихів та площу відкритих продихів по відношенню до поверхні листка
- 3) Набути навичок дослідження відносної інтенсивності транспірації.

**Література:**

1. Викторов Д.П. Малый практикум по физиологии растений. – М.: Высшая школа, 1983. – 135 с.: робота №21
2. Практикум по физиологии растений /под ред. Н.Н. Третьякова. – М., 1991. – 271 с.: робота №
3. Векирчик К.Н. Физиология растений. Практикум. – К.: Высшая школа, 1984. – 240 с.: робота №22
4. Практикум по физиологии растений /под ред. Н.Н. Третьякова. – М., 1991. – 271 с.: робота №
5. Фізіологія рослин: практикум /О.В. Брайон та ін. – К.: Вища школа, 1995. – 191 с. – робота № 11.

**До заняття:** письмово дати визначення поняттям:

Епідерма - \_\_\_\_\_

Продихи – \_\_\_\_\_

Замикаючі клітини – \_\_\_\_\_

Випаровування – \_\_\_\_\_

Транспірація – \_\_\_\_\_ - \_\_\_\_\_

Кристалогідрати – \_\_\_\_\_

### **Завдання 1. Рух продихів. Визначення площі відкритих продихів на одиницю поверхні.**

**Пояснення:** Інтенсивність транспірації регулюється відкриттям і закриттям продихів. В основі руху замикаючих клітин беруть участь різноманітні фактори: світло, оводненість тканин, температура, концентрація CO<sub>2</sub> в міжклітинниках. Головним фактором в цьому процесі є вода, як фактор забезпечення тургорного стану замикаючих клітин продихів. При нормальному забезпеченні клітин водою продихи відкриваються, при втраті води – закриваються. Відтак, ступінь розкриття продихів може бути одним з фізіологічних показників при встановленні часу поливу рослин. Кількість продихів та площу продихових щілин на одиницю листової поверхні можна визначити за допомогою мікроскопа, використовуючи окуляр-мікрометр.

**Об'єкт:** традесканція віргінська (*Tradescantia virginiana*) або інші рослини родини Комелінові.

**Матеріали та обладнання:** мікроскоп, предметні та покривні скельця, окуляр-мікрометр, препарувальні голки, скальпель, розчин гліцерину у воді (0,5%), дистильована вода, піпетки, фільтрувальний папір.

#### **Хід роботи:**

До початку роботи піддослідні рослини традесканції поливають та витримують на освітленому вікні 1,5-2 години. З нижнього епідермісу листка готують зріз – знімають лезом шар епідермісу та 1-2 шари клітин мезофілу, аби не пошкодити епідермальні клітини. Зріз кладуть на предметне скло в краплину 5%-го розчину гліцерину, накривають покривним склом і розглядають під мікроскопом при малому збільшенні. На початку досліду гліцерин викличе плазмоліз, і продихи замкнуться. Через 15-20 хв гліцерин пройде крізь цитоплазму у клітинний сік. При цьому тургорний тиск відновиться, настане деплазмоліз, і продихи відкриваються. Якщо

продихові щілини відкриваються слабко, на предметне скло поряд з препаратом наносять краплину води і за допомогою фільтрувального паперу втягують її у препарат. Після цього роблять малюнки: продиховий апарат епідермісу листка традесканції з відкритою та закритою продиховою щілиною.

За допомогою окуляр-мікрометра (працюють парами) визначають діаметр поля зору мікроскопа, ширину та довжину продихових щілин. В окуляр-мікрометрі, що використовується на занятті, при використанні об'єктиву  $\times 8$ , 1 велике ділення дорівнює 1 мікрометру, тобто  $10^{-6}$  метра, маленькі поділочки –  $10^{-7}$  метра.

Підраховують кількість продихів в полі зору мікроскопа.

Розраховують площу поля зору мікроскопа:

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

де  $r$  –  $\frac{1}{2}$  діаметра поля зору мікроскопа.

Розраховують середню площу однієї продихової щілини, як площу еліпса:

$$S_p = \pi * a * b$$

де  $a$  – мала напіввісь еліпса (половина ширини продихової щілини),  $b$  – велика напіввісь еліпса (половина довжини продихової щілини).

За отриманими даними розраховують, який відсоток складають площі продихових щілин від загальної площі листка.

Дослід повторюють з епідермісом верхньої сторони листка традесканції. Оскільки параметри продихового апарату – видоспецифічна особливість, то на препараті епідерми з верхнього боку листка достатньо порахувати кількість продихів, решту замірів підставляють з попереднього препарату.

Записати розрахунки в таблицю. Результати спостережень замалювати (рис. 7).

Показники	Дані для верхнього боку листка	Дані для нижнього боку листка
Ціна поділочки окуляр-мікрометра, в мкм		
Площа поля зору мікроскопа, в мкм <sup>2</sup>		
Кількість продихів в полі зору мікроскопа, шт.		
Розмір однієї продихової щілини, в поділках окуляр-мікрометра:		
А) ширина		
Б) довжина		
Площа однієї продихової щілини, в мкм <sup>2</sup>		
Площа продихових щілин в полі зору мікроскопа, в мкм <sup>2</sup>		
Відношення площі продихових щілин до площі листка, %		

**Рис. 7. Рух продихів епідерми листка традесканції: 1 – відкриті продихи, 2 – закриті продихи.**

Зробити висновок, порівнявши результати досліду для верхнього та нижнього боків листка.

**Завдання 2. Визначення інтенсивності транспірації рослин ваговим методом.**

**Пояснення:** Процес випаровування води з поверхні листка називають транспірацією. Один з показників транспірації є її інтенсивність, тобто кількість води, яка випаровується листком за одиницю часу одиницею поверхні або масою листка. Відносна транспірація – відношення інтенсивності транспірації з одиниці площі листка до інтенсивності випаровування з такої самої площі вільної водної поверхні за одиницю часу. Ваговий метод визначення інтенсивності транспірації заснований на врахуванні зменшення води рослиною або окремими її органами.

**Об’єкт:** листя пеларгонії садової (*Pelargonium hortorum*), гібіскуса китайського (*Hibiscus rosa-sinensis*), сингоніума (*Syngonium*) або іншої кімнатної рослини.

**Матеріали та обладнання:** ваги та рівноваги, прилад Веска, ножиці, папір, лінійка, рідка рослинна олія, пінцет, лезо, спирт.

**Хід роботи**

Апарат Веска або пробірку заповнюють водою (кип’яченою). З рослини зрізують лист. Черешок відрізають під водою і вставляють в коліно приладу або пробірки, зверху додають олію (2 – 3 краплі) (рис. 8). Все це зважують. Через 40 – 60 хв знову зважують. По різниці між першою та другою вагою визначають кількість води, що випаровувалась листком. Дослід повторюють біля вентилятора (в потоці повітря).



**Рис. 8. Прилад для вимірювання транспірації ваговим методом.**

Для визначення інтенсивності транспірації обчислюють: кількість води, що випарилась листком, час досліду, площа листка. Площу листка визначають так: зважують квадрат паперу, 10 x 10 см (тобто 100 см<sup>2</sup>). На цьому папері замальовують контури листка, вирізають і зважують цей папір. З простої пропорції дізнаються площу листка у см<sup>2</sup>.

Інтенсивність транспірації  $T$  (в г/м<sup>2</sup> год) обчислюють за формулою:

$$T = \frac{10000 * C * 60}{S * t}$$

де  $C$  – кількість випаруваної листком води в г за 1 год.,  $t$  – тривалість досліду (в хвиликах), год;  $S$  – площа листка, см<sup>2</sup>.

Паралельно в тих самих умовах визначають інтенсивність випаровування води з вільної водної поверхні ( $E$ ). Для цього встановлюють кількість води, що випарувалась з поверхні чашки Петрі за 1 год, зважуючи чашку Петрі з водою на початку досліду і по закінченню досліду. Площу поверхні чашки Петрі підраховують за формулою:  $S_1 = \pi \cdot r^2$

Розраховують  $E$  за раніше наведеною формулою:

$$T = \frac{10000 * C * 60}{S * T}$$

Обчислюють величину відносної транспірації (BT):

$$B = \frac{T}{E}$$

Результати записати в таблицю

Умови досліджу	Транспірація				Інтенсивність транспірації, (T) $г \times м^2 / год$
	Маса пробірки з водою та листком, г		Кількість води, що випарувалася, г	Площа листка, $см^2$	
	На початку досліджу	В кінці досліджу			
В нормі					
В потоці повітря					

Умови досліджу	Випаровування (чашка Петрі)				Інтенсивність випаровування, (E) $г \times м^2 / год$
	Маса чашки Петрі з водою, г		Втрати води, г	Площа поверхні, $см^2$	
	На початку досліджу	В кінці досліджу			
В нормі					
В потоці повітря					

Окремі робочі групи студентів працюють з різними рослинними об'єктами. Результати зводять в підсумкову таблицю:

Об'єкт дослідження	Інтенсивність транспірації в нормі	Відносна транспірація в нормі	Інтенсивність транспірації в потоці повітря	Відносна транспірація в потоці повітря

Порівнюють різні види рослин і роблять висновки про здатність їх регулювати транспірацію, враховуючи, що ця здатність прямо пропорційна величині відносної транспірації.

Висновки:

---



---



---



---



---



---



---



---



---



---



---

**Завдання 3. Визначення інтенсивності транспірації верхнього і нижнього боків листка за допомогою хлоркобальтового паперу (За Шталем).**

*Пояснення:* Окрім кількісних методів, існують якісні методи дослідження транспірації. Одним з них є порівняльний хлоркобальтовий метод, який дозволяє встановити, який бік листка

випаровує більше води – верхній чи нижній. Метод ґрунтується на зміні кольору фільтрувального паперу, просоченого 5%-ним розчином хлориду кобальту, при поглинанні ним парів води під час випаровування води листовою поверхнею. За часом, який необхідний для того, щоб синій папірець ( $\text{CoCl}_2$ ) набув рожевого забарвлення ( $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ), роблять висновок про інтенсивність транспірації на нижньому і на верхньому боці листка однієї рослини.

*Об'єкт:* пеларгонія (*Pelargonium*), гібіскус (*Hibiscus*), сингоніум (*Synгоніум*) або інша кімнатна рослина з великим міцним листям.

*Матеріали та обладнання:* смужки фільтрувального паперу, оброблені 5%-вим розчином хлориду кобальту (зневоднені), пінцети, скляні пластинки, предметні та покривні скельця, великі канцелярські скріпки, дистильована вода, піпетки, леза, препарувальні голки, мікроскопи, секундомір.

### Хід роботи:

Смужки хлоркобальтового паперу пінцетом кладуть на нижню та верхню поверхні листка кімнатної рослини, накривають предметним склом і закріплюють скріпками. Під час досліду не можна торкатися до паперу руками, оскільки волога, що випаровується з поверхні людської шкіри, змінює колір паперу, що вплине на чистоту експерименту.

Зазначивши на час початку досліду, ведуть спостереження. Слід встановити, за який проміжок часу смужки паперу повністю змінять колір. По закінченні досліду з листків, до яких кріпився хлоркобальтовий папір, роблять тимчасові мікропрепарати епідерми з нижньої і верхньої поверхні, і підраховують кількість продихів, що є в полі зору мікроскопа. Результати дослідів вносять в таблицю.

Бік листка	Об'єкти досліду					
	1.		2.		3.	
	Час зміни кольору паперу, хв.	Кількість продихів у полі зору мікроскопа, шт.	Час зміни кольору паперу, хв.	Кількість продихів у полі зору мікроскопа, шт.	Час зміни кольору паперу, хв.	Кількість продихів у полі зору мікроскопа, шт.
Нижній						
Верхній						

Роблять висновок про те, з якого боку листка інтенсивність транспірації вища, і як це пов'язано з густиною розташування продихів на епідермі.

**Висновки:**

---



---



---



---



---



---



---



---



---



---

### Завдання 4. Визначення стану продихів методом інфільтрації (за Молішем).

*Пояснення:* Органічні розчинники – спирт, бензол, ксилол – мають різну ступінь проникності крізь продихові щілини з різним ступенем відкриття. Коли продихи на листку закриті, то крапля бензолу й крапля спирту залишаються на поверхні листка і зовсім випаровуються. Коли продихи широко відкриті, то краплі обох рідин швидко проходять через продихові щілини на

листках, якщо дивитись на них на світло, виникають прозорі плями, бо рідина заповнює міжклітинники. Коли ж проходить тільки бензол, який характеризується меншою в'язкістю і швидше проходить крізь вузькі щілини, то продиhi будуть напіввідкриті. Якщо ж продиhi лише трохи напіввідкриті та бензол не проходить, наносять краплю ксилолу, він проходить через вузькі щілини.

Таким чином, використовуючи послідовно три рідини (спирт, бензол, ксилол), можна мати уяву про відносний ступінь відкриття продиhiв в тих чи інших умовах.

*Об'єкт:* кімнатні рослини – пеларгонія (*Pelargonium*), гібіскуc (*Hibiscus*), сингоніум (*Syngonium*) тощо – частина яких підсушена, частина – інтенсивно полита дві-три години тому, частина – полита безпосередньо перед заняттям (ступінь оводненості маркується спеціальними табличками).

*Матеріали та обладнання:* спирт, бензол, ксилол, скляні палички, вузькі паперові чи пластикові «стікери»-наліпки.

### Хід роботи:

Вибрати на піддослідній рослині листок, з яким буде проводитись дослід, позначити за допомогою стікера на черешку. Обережно перевернути листок, **НЕ ВІДРИВАЮЧИ ВІД РОСЛИНИ**. На два сусідніх ділянки (розділених головною жилкою) нижнього боку листка скляними паличками або піпетками нанести плямки спирту, бензолу, ксилолу. Краплі мають бути досить великими, щоб змочити поверхню, але такими, щоб рідина не скочувалась з листків.

Залишити піддослідні рослини, через кожні 2-3 хв перевіряючи стан листків. Коли на листках не залишиться сліду від плям – через поглинання чи випаровування (плямки перестануть блищати), розглянути листок у проникаючому світлі. За наявністю або відсутністю масних напівпрозорих плям від органічних рідин зробити висновок про ступінь відкриття продиhiв.

Результати занести до таблиці.

Об'єкт (назва рослини)	Умови	Інфільтрація (+ або –)			Ступінь відкриття продиhiв (слабко, середньо, сильно)
		спирт	ксилол	бензол	

Зробити висновок про ступінь відкриття продиhiв піддослідних рослин та його залежності від оводненості рослини.

**Висновки:**

---



---



---



---



---

---

---

---

---

---

---

**Контрольні запитання:**

1. Назвати одиниці вимірювання транспірації.
2. Якими методами можна визначити транспірацію?
3. Якими методами можна обчислити площу поверхні листка?
4. Від яких факторів середовища залежить інтенсивність транспірації?
5. Продиховий апарат, особливості його роботи.
6. Фізіологічна основа відкриття та закриття продихів.
7. Механізм відкриття та закривання продихових щілин.
8. Види руху продихів, механізм ініціації процесу.

Дата захисту \_\_\_\_\_ Оцінка \_\_\_\_\_ Підпис викладача \_\_\_\_\_



## Робота №6. Екологія водного режиму: посухостійкість рослин.

**Мета:** Порівняти коефіцієнт зав'ядання паростків різних рослин на різних типах ґрунту.

**Завдання:**

- 1) оволодіти методикою закладки ізольованих піщаних рослинних культур;
- 2) набути навичок проведення тривалих фітофізіологічних експериментів.

**Література:**

1. Летние практические занятия по физиологии растений (полевая практика) / Д.М. Сказкин, М.С. Миллер, Г.А. Обухова [и др.]. М.: Просвещение, 1973. – Работа №51. – С. 161-164
2. Фізіологія рослин: практикум / О.В. Брайон та ін. – К.: Вища школа, 1995. – 191 с. – робота №21

**До заняття:** письмово дати визначення поняттям:

Водний баланс рослин – \_\_\_\_\_

Коефіцієнт зав'ядання – \_\_\_\_\_

Вологість зав'ядання – \_\_\_\_\_ - \_\_\_\_\_

Вологоємність – \_\_\_\_\_

### Завдання 1. Визначення вологості зав'ядання методом паростків на різних типах ґрунтів

**Пояснення:** Стійкість рослин до недостачі ґрунтової вологи можна охарактеризувати через величину зв'язаної ґрунтової води, при якій відбувається стійке зав'ядання рослини.

Кількість води в грамах на 100 г абсолютно сухого ґрунту, при якій спостерігається стійке зав'ядання рослин, називається вологістю зав'ядання, або коефіцієнтом зав'ядання. Ця величина залежить від типу ґрунту та його складу, також для різних рослин на одному й тому ж ґрунті вона буде дещо відрізнятися.

Одним з методів, що визначає коефіцієнт зав'ядання, є метод паростків, розроблений О.В. Новіковим.

**Об'єкт:** сухе насіння пшениці (*Triticum vulgare*), насіння гороху (*Pisum sativum*) або квасолі (*Phaseolus vulgaris*), насіння соняшника (*Helianthus annuus*).

**Матеріали та обладнання:** порцелянові або пластикові склянки (без отворів внизу), електронні ваги, мірний циліндр (або мірний пальчик), круглі ватні серветки, білий папір, пісок, глина, каштановий ґрунт, чорнозем (або перегній), клейка стрічка (скотч), ножиці, олівець;

**Для визначення вологості ґрунту:** алюмінієві циліндричні бюкси з кришками (3 або більше, в залежності від кількості досліджуваних ґрунтів), сушильна шафа або електроплитка, пластмасові увігнуті шпателі для ґрунту, скляні палички з лопаткою на кінці, металеві зажими для переміщення бюксів, електронні ваги.

### Хід роботи

Першим етапом при виконанні даної роботи є визначення вологості ґрунту (у % від маси сирого ґрунту). Для визначення у чистий алюмінієвій бюкс, який попередньо зважують – з кришкою і без кришки – насипають пробу ретельно перемішаного піддослідного ґрунту, зважують на електронних вагах. Через різницю показників – визначають вагу наважки. Далі нагрівають ґрунт у сухо жаровій шафі або на сильно нагрітій електроплитці, обережно помішуючи ґрунтопробу скляною лопаточкою. Через 2-3 хвилини знімають бюкс, накривають кришкою, трохи охолоджують і зважують на електронних вагах. Фіксують показники ваги. Відкривають бюкс і повторюють процедуру нагрівання і зважування.

Зважують до того моменту, поки вага не припинить змінюватися. Порівнявши результати зважувань на початку та по закінченні досліду, вираховують масу абсолютно сухого

грунту і води, що випарувалася, і підраховують відносну вологість ґрунту у % (до маси вологого ґрунту).

Другий етап роботи – підготовка ґрунту для висівання насіння. Порцелянові або пластикові ємкості зважують (найкраще використовувати стандартні харчові пластикові стаканчики для напоїв, вони мають однакову вагу), наповнюють за допомогою пластикових шпателів ґрунтом приблизно однакового об'єму з розрахунку: 1 вид насіння висівається в 1 тип ґрунту у 2-х повторностях. Всі склянки з ґрунтами зважують. Використовуючи показники відносної вологості, для кожної склянки окремо розраховують масу абсолютно сухого ґрунту та масу води в наважці:

**Приклад:** маса склянки – 70 г.

**Маса склянки з ґрунтом – 165 г**

**Маса ґрунту – 95 г**

**Припустимо, визначена відносна вологість ґрунту складає 15%. Тоді:**

**У 100 г ґрунту – 15 г води**

**У 95 г ґрунту – X г води**

**Складаємо просту пропорцію:**

$$X = \frac{95 * 15}{100} = 14,2 \text{ г води}$$

**(95 – 14,2) = 80,8 г – маса сухого ґрунту в стаканчику.**

Далі проводять розрахунки, скільки води слід буде додати в кожну склянку для оптимального зволоження ґрунту. Для цього необхідно враховувати показник **повної, або граничної, вологості** ґрунту – кількості води, яку максимально здатен втримати без стікання даний тип ґрунту. Величина ця специфічна для різних ґрунтів, напряду залежить від їх складу. Для досліджених типів ґрунту враховуємо наступні показники вологості (у масових %):

Пісок – 20%, глина – 80%, торф – 200%.

Для нормальних умов росту піддослідних рослин ґрунт в стаканчиках має бути зволожений до 80% від показника повної вологості ґрунту. З урахуванням вищесказаного, наважки води, необхідні для кожної склянки, розраховують за формулою:

$$m_{H_2O} = m_{H_2O_{\max}} - m_1 H_2O, \text{ де}$$

$m_{H_2O}$  – кількість води, реально необхідна для поливу зразка;

$m_{H_2O_{\max}}$  – кількість води, розрахована за припущення, що в склянці тільки абсолютно сухий ґрунт;

$m_1 H_2O$  – кількість води, що вже наявна в стаканчику (була розрахована раніше).

$m_{H_2O_{\max}}$  розраховується за формулою:

$$m_{H_2O_{\max}} = m_{\text{аб.с.г.}} * y * 0,8, \text{ де}$$

$m_{\text{аб.с.г.}}$  - вага абсолютно сухого ґрунту в склянці (розрахована раніше)

$y$  – величина повної вологості ґрунту (у долях від одиниці).

Проводять розрахунки для інших типів ґрунтів та ґрунтосумішей, використаних в досліді, для кожної склянки окремо.

Третій етап – власне закладка досліду. Відбирають по 10 насінин пшениці, по 5 насінин соняшника чи 5 насінин гороху, з урахуванням подвійної повторності сортів насіння для кожного типу ґрунту (наприклад, 2 склянки з піском і висіяним горохом). Насіння зважують, вагу записують на паперовій етикетці, куди складають насіння. Висівають насіння в **СУХИЙ** ґрунт на глибину 1-2 см. Додають воду в кількості, що необхідна саме для даної склянки згідно розрахунків; при цьому вважають, що 1 мл води важить 1 г. Прикривають ґрунт в склянці тонким шаром вати, але тільки після того, як вода повністю буде поглинута ґрунтовим шаром, щоб вата не увібрала частину наважки води. На склянку клейкою стрічкою кріплять паперову етикетку, де вказують номер досліду, групу, підгрупу, тип ґрунту, культуру та час закладки



Знаючи вагу абсолютно сухого ґрунту для кожної проби, розрахувати коефіцієнт зав'ядання для кожної культури на досліджених типах ґрунту як кількість води, недоступної рослині, на 100 г абсолютно сухого ґрунту:

розрахунків

Для



## КОЛОКВІУМ «ВОДНИЙ РЕЖИМ РОСЛИН»

Теоретичні питання, винесені на співбесіду:

1. Значення води для життя рослини.
2. Роль ґрунту в забезпеченні рослин водою. Позаґрунтові джерела води для рослини.
3. Стан і форми води в ґрунті. Доступна і недоступна вода для рослин.
4. Основні етапи розвитку вчення про водообмін рослин.
5. Коренева система як орган надходження води в рослину.
6. Шляхи і механізми надходження води в клітину рослин.
7. Механізм поглинання води коренем. Апопластний шлях, симпластний шлях води в корені.
8. Рух води по стеблу та листям рослини. Рушійні сили пересування води по стеблу та жилкам листа.
9. Кореневий тиск, механізм його виникнення. Адгезія, когезія. «Плач» рослин, гутація.
10. Будова листка як органу транспірації. Значення окремих структур для транспірації.
11. Транспірація. Її значення в житті рослин.
12. Види транспірації. Етапи продихової транспірації.
13. Одиниці виміру транспірації. Методи обліку транспірації.
14. Вплив зовнішніх умов на інтенсивність транспірації.
15. Добовий хід транспірації.
16. Водний баланс і водний дефіцит у рослини. Види зав'ядання і їх вплив на фізіолого-біохімічний стан рослин.
17. Посуха, види посухи. Вплив посухи на рослину.
18. Заходи боротьби з посухою в умовах півдня України.
19. Фізіологія поливної рослини, особливості.
20. Водний режим рослин різних гігроморф (екологічних груп по відношенню до вологості).

Перелік основної літератури для самопідготовки:

1. Мусієнко М.М. Фізіологія рослин. – К.: Вища школа, 1995. – 503 с.
2. Мусієнко М.М. Фізіологія рослин. – К.: Фітосоціоцентр, 2001. – 392 с.
3. Брайон О.В, та ін. Фізіологія рослин. Практикум. К.: Вища школа, 1995.
4. Иванов В.П. и др.. Практикум по физиологии растений. – М.: АКАДЕМ, 2001.
5. Куперман Ф.М. Морфофизиология растений. – М.: Высшая школа, 1997. – 287 с.
6. Полевой В.В., Саламатова Т.С. Физиология роста и развития растений. – Л.: Издательство ЛГУ, 1991. – 238 с.
7. Полевой В.В. Физиология растений. – М.: Высшая школа, 1989. – 464 с.
8. Якушкина Н.И. Физиология растений. – М.: Просвещение, 1993. – 351 с.

## ТЕМА «ДИХАННЯ РОСЛИН»

### Робота №7: Ферменти каталітичних систем дихання рослин (частина 1).

**Мета:** Сформувати поняття про сутність дії та градієнт активності окремих ферментів каталітичних систем дихання рослинних організмів.

**Завдання:**

- 1) Навчитися визначати наявність амілази, каталази та пероксидази в різних рослинних об'єктах;
- 2) Оволодіти методикою визначення активності ферментів за кількістю продуктів реакції.

**Література:**

- 1) Лебедев С.И. Физиология растений / 2-е изд. – М.: Колос, 1982. – 463 с. С. 31 – 42, 42 – 46.
- 2) Фізіологія рослин: Практикум /за ред.проф. М.М. Мусієнка. – К.: Вища школа, 1995. – 191 с. С. 33 – 36.
- 3) Проценко Д.П. Фізіологія рослин. – К., Вища школа, 1978. С. 16 – 25, 30 – 32, 96 – 146.
- 4) Практикум по физиологии растений / под ред. Н.Н. Третьякова. – 3-е изд. – М.: Агропромиздат, 1990. – 271 с. работа 51.

**До заняття:** письмово дати визначення поняттям:

Ферменти – \_\_\_\_\_

Основними класами ферментів рослин є \_\_\_\_\_

Амілаза – \_\_\_\_\_ - \_\_\_\_\_

Каталаза – \_\_\_\_\_

Пероксидаза – \_\_\_\_\_

Глюкоза – \_\_\_\_\_

Крохмаль – \_\_\_\_\_

### Завдання 1. Визначення наявності ферменту амілази у пророслому насінні.

**Пояснення:** Ферменти (ензими) - спеціалізовані каталізатори рослин, за допомогою яких відбувається більшість біохімічних реакцій. При проростанні насіння в клітинах проростка одночасно відбуваються процеси синтезу і гідролізу, при цьому гідролітичні процеси переважають. Гідролітичні ферменти, які за участю води розкладають складні органічні речовини на більш прості, об'єднуються в групу гідролаз. До гідролаз відноситься амілаза (діастаза), яка руйнує крохмаль до декстринів і мальтози. В значній кількості амілазу можна виявити в пророслому насінні з високим вмістом запасних вуглеводів. До означених рослинних об'єктів належать зернівки злакових культур – пшениці, ячменю, вівса, кукурудзи.

**Об'єкт:** проросле насіння пшениці (*Triticum vulgare*) або кукурудзи (*Zea mays*), сухе насіння пшениці чи кукурудзи.

**Матеріали та обладнання:** агар-крохмальні пластинки в чашках Петрі або густий крохмальний клейстер, залитий в чашки Петрі шаром близько 5 мм завтовшки і охолоджений, дистильована вода, свіжий розчин І в КІ, препарувальне скло, ланцети або леза, препарувальні голки, пінцети.

### Хід роботи

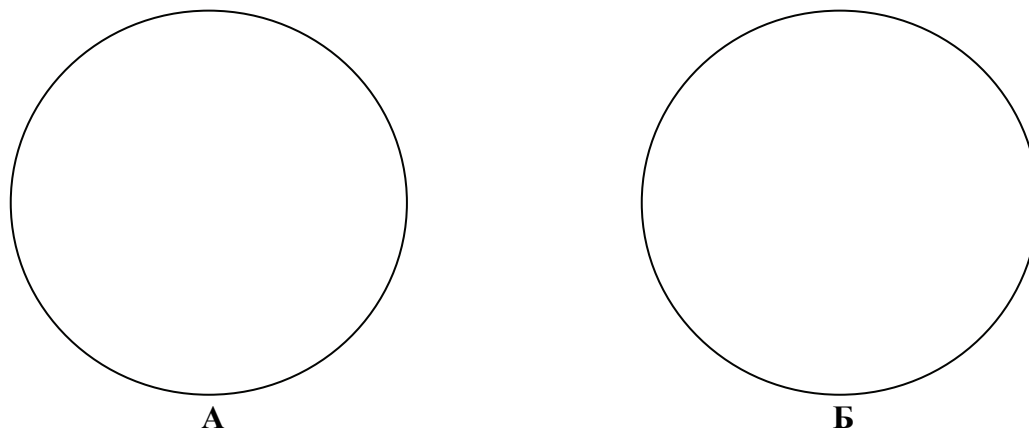
Пророщене насіння різних злакових культур, та аналогічне сухе насіння, розрізають вздовж (по шву), зріз змочують водою. Розрізаною поверхнею половинки насінин (за допомогою пінцету) кладуть на агар-крохмальну пластинку (чи на крохмальний клейстер) у

чашку Петрі. Проросле і сухе насіння беруть в однаковій кількості і розташовують вздовж протилежних бортиків чашки Петрі (пророслі зліва, сухі справа).

Через 30-40 хвилин пінцетом знімають насіння, а пластинку заливають розчином І в КІ.

Через 1-2 хвилини оцінюють забарвлення агар-крохмальної пластинки, розглядаючи її проти світла або на фоні аркуша білого паперу. Синій колір свідчить про наявність крохмалю, білі незабарвлені ділянки – вказують на його відсутність (розкладений), малинові чи фіалкові – на наявність олігосахаридів різної будови (неповний розклад крохмалю).

Результати досліду замалювати. Малюнки підписати (рис. 9).



**Рис. 9.** Агар-крохмальні пластинки, оброблені розчином І в КІ: А – після контакту з сухим насінням; Б – після контакту з пророслим насінням.

Зробити висновок про те, в якому насінні – сухому чи пророслому – можливе виявлення присутності ферменту амілази, і обґрунтувати висновок, спираючись на результати спостережень.

Висновки:

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

## **Завдання 2. Визначення активності каталази в різних рослинних об'єктах.**

*Пояснення:* Оксидоредуктази – це ферменти, які каталізують окисно-відновні реакції. До них відносяться реакції, які супроводжуються відняттям водню від речовин. Такі реакції каталізують анаеробні дегідрогенази (НАД, НАДФ), флавінові ферменти. До групи оксидоредуктаз відносяться поліфенолоксидаза, пероксидаза, каталаза. Каталаза – двокомпонентний фермент, який складається з білка і простатичної групи, що містить залізо. Основна роль каталази – розщеплення перекису водню  $H_2O_2$  до води і молекулярного кисню. Таким чином каталаза виконує захисну функцію, дезактивує надлишок перекису, що утворюється в процесі життєдіяльності рослини. Каталаза присутня у всіх живих тканинах рослин, але її активність дуже різна, і залежить від низки внутрішніх і зовнішніх факторів.

На лабораторних заняттях використовуються різні методики виявлення ступеня активності каталази

**А) Визначення активності каталази за допомогою мікроскопа.** Дозволяє якісно встановити залежність між віком клітин, зовнішніми впливами та рівнем активності каталази.



**Об'єкт:** жива рослина елодеї канадської (*Elodea canadensis*).

**Матеріали та обладнання:** оптичний мікроскоп, предметне скло, пінцети, сірники, спиртівки, 3% розчин  $H_2O_2$ , секундомір.

#### Хід роботи:

На предметне скло наносять краплю перекису водню, в якій кладуть лист елодеї і розглядають під мікроскопом. Перекис водню проникає в клітини елодеї і розщеплюється в них каталазою, про що свідчить виділення пухирців кисню. Інтенсивність цього процесу в клітинах на верхівці листка (дозрілі сформовані клітини) та в його основі (молоді клітини) відрізняються, на що слід звернути увагу.

На інше предметне скло у каплю води занурюють листок елодеї і нагрівають його до кипіння над спиртівкою, тримаючи пінцетом. Листок остуджують і наносять на нього краплю  $H_2O_2$ . Відзначають, чи виділяються пухирці кисню в цьому випадку, чи ні.

Результати досліду відображають у вигляді малюнків двох препаратів різних листків елодеї (кип'яченої та некип'яченої), відобразивши різницю в інтенсивності виділення пухирців кисню на верхівці листка та при основі. Малюнки (рис. 10) підписують.

А

Б

**Рис. 10.** Реакція листка *Elodea canadensis* на розчин  $H_2O_2$ : А – до нагрівання листка; Б – після нагрівання до  $100^\circ C$ .

Зробити висновок про те, як активність каталази залежить від віку клітин рослини, та як на цей показник впливають високі (критичні) температури.

**Висновки:**

---

---

---

---

---

---

---

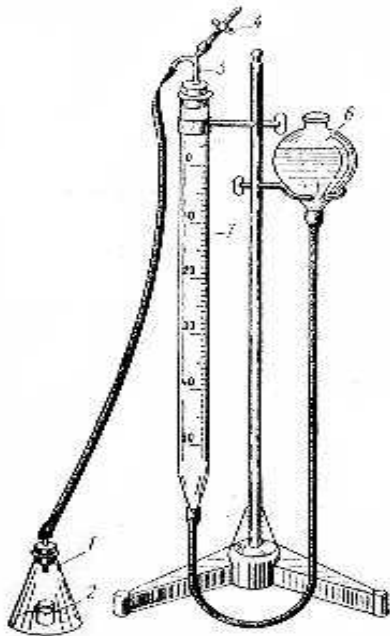
---

**Б) Визначення активності каталази за допомогою каталазника.** Метод дозволяє **кількісно** оцінити ступінь активності каталази в різних рослинних об'єктах за однакових умов.  
**Об'єкт:** бульба картоплі (*Solanum tuberosum*), цибулина цибулі городньої (*Allium cepa*), плід яблуні (*Malus domestica*), листя капусти городньої (*Brassica oleracea*), плоди цитрусових культур (*Citrus*), листки кімнатних сукулентних рослин.

**Матеріали та обладнання:** електронні ваги, порцелянові ступки з товчачиками, мірні пальчики чи мірні склянки, скляні колби на 500 мл, пластиковий стаканчик на 5 мл, великі пінцети, пластилін, 3% розчин  $H_2O_2$ , каталазники на штативі (зібраний заздалегідь), карбонат кальцію  $CaCO_3$ , дистильована вода, секундомір.

#### Хід роботи

Визначення активності каталази можна проводити шляхом визначення виділеного об'єму кисню за допомогою приладу – каталазника. Для цього зважують 5 г бульби картоплі або якогось іншого об'єкту (цибуля, морква, яблуко, капуста, лимон), розтирають в ступці до кашцеподібного стану, додають 0,5 г  $CaCO_3$ , доливають 20 мл води, перемішують, виливають суміш у колбу на 500 мл.



Великим пінцетом у колбу ставлять маленький стаканчик з 5 мл 3% розчину перекису водню. Колбу герметично закупорюють пробкою з трубкою, що поєднується з приладом-каталазником (рис. 11). У бюретках встановлюють однаковий рівень води. Перевіряють герметичність всіх з'єднань приладу. Різко струшують конічну колбу, вміст колби перемішують так, щоб упав маленький стаканчик з  $H_2O_2$  і перекинувся. Протягом 3 хвилин колбу струшують. По зниженню рівня води у бюретці каталазника визначають об'єм кисню, що виділився за час досліду.

Результати досліду записують в таблицю.  
Деталі каталазника на рис. 11 підписують.

Рис. 11. Каталазник.

**Звітна таблиця**

Об'єкт дослідження	Об'єм виділеного $O_2$ за 3 хв на 5 г об'єкту

На основі отриманих даних зробити висновок про те, в яких об'єктах активність ферментів вище, в яких – нижче. Розташувати піддослідні об'єкти в ряд згідно зменшення активності каталази.

Висновки:

---



---



---



---



---



---



---



---



---



---

**Завдання 3. Виявлення пероксидази в соці цибулини цибулі.**

*Пояснення:* Пероксидаза – фермент групи оксидоредуктаз, що активує кисень перекисів. Перекис водню при цьому розкладається до  $H_2O$  та  $O^*$ . Виявлення наявності пероксидази спирається на зміну кольору при окисленні поліфенолів до хінонів – з коричневого до рожевого. При виборі рослинних об'єктів важливою умовою є відсутність інтенсивного забарвлення в

тканинах та висока активність пероксидази. Прикладом такого об'єкту є цибулини цибулі, позбавлені антоціанових пігментів.

*Об'єкт:* цибулина цибулі городньої (*Allium cepa*) без антоціану.

*Матеріали та обладнання:* металева тертка, марля, конічна скляна колба на 10 мл, мірні скляні піпетки, лійки, пробірки, 1% розчин гідрохінону, 3% розчин  $H_2O_2$ .

### Хід роботи

Натирають на тертці цибулину цибулі, віджимають сік через марлю у колбочку. Об'єм отриманого екстракту повинен бути не менше за 3 мл. Готують три пробірки, промарковані різнокольоровими стікерами. У першу вносять 5 мл 1% розчину гідрохінону та 1 мл 3% розчину  $H_2O_2$ , 1 мл соку цибулі. У другу пробірку – 5 мл розчину гідрохінону і 1 мл соку цибулі. У третю пробірку – 5 мл розчину гідрохінону і 1 мл-3% розчину  $H_2O_2$ .

Спираючись на відзначені зміни забарвлення, відзначити, в якій пробірці відбулася базова реакція. Пояснити зміни, що відбуваються в кожній з пробірок. Написати рівняння реакції, що відбулася. Замалювати пробірки, зробити підписи до малюнків (перерахувати реагенти в кожній пробірці, відзначити хід реакції).

### Рис. 8. Визначення наявності пероксидази в соці цибулини цибулі.

Зробити висновок про те, чи наявна в піддослідному об'єкті пероксидаза, і як можна встановити наявність в рослинних об'єктах цього ферменту.

Висновки:

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### Контрольні запитання:

1. Якою є роль ферментів в організмі рослин?
2. Які класи ферментів ви знаєте? Назвіть фізіологічне значення кожного класу.
3. Ферменти яких класів каталізують окисно-відновні перетворення дихального субстрату?
4. Який механізм дії оксидоредуктаз в рослинній клітині?
5. Яка роль ферменту каталази в клітині?
6. Яка роль ферменту пероксидази в клітині?

Дата захисту \_\_\_\_\_ Оцінка \_\_\_\_\_ Підпис викладача \_\_\_\_\_

## Робота №8: Ферменти каталітичних систем дихання рослин (частина 2)

**Мета:** сформуванню уявлення про залежність між температурою доквілля та результатом проходження ферментативних реакцій

**Завдання:**

- 1) Оволодіти методикою складання температурної шкали гідролізу крохмалю;
- 2) Закріпити навички порівняння різних варіантів результату однотипного досліду

**Література:**

- 1) Лебедев С.И. Физиология растений / 2-е изд. – М.: Колос, 1982. – 463 с. С. 31 – 42, 42 – 46.
- 2) Фізіологія рослин: Практикум /за ред.проф. М.М. Мусієнка. – К.: Вища школа, 1995. – 191 с. С. 33 – 36.
- 3) Проценко Д.П. Фізіологія рослин. – К., Вища школа, 1978. С. 16 – 25, 30 – 32, 96 – 146.
- 4) Практикум по физиологии растений / под ред. Н.Н. Третьякова. – 3-е изд. – М.: Агропромиздат, 1990. – 271 с.робота 51.

**До заняття:** письмово дати визначення поняттям:

Гідролази – \_\_\_\_\_

Амілодекстрин – \_\_\_\_\_

Еритродекстрин – \_\_\_\_\_ - \_\_\_\_\_

Мальтоза – \_\_\_\_\_

### Завдання 1. Одержання шкали гідролізу крохмалю.

**Пояснення:** Крохмаль відноситься до поліцукрів, він не розчиняється у гарячій воді. Під дією ферменту амілази крохмаль поступово гідролізується до глюкози та фруктози через ряд проміжних продуктів – декстринів, які забарвлюються йодом у різний колір: крохмаль у синій, амілодекстрин у фіолетовий чи малиновий, еритродекстрин у оранжевий. Глюкоза та мальтоза йодом не зафарбовуються, тобто відсутність зміни жовтого забарвлення реактиву вказує на повне завершення процесу гідролізу крохмалю.

**Об'єкт:** проросле насіння ячменю посівного (*Hordeum sativum*) (солодовий витяг).

**Матеріали та обладнання:** солодовий витяг, розчин І в КІ, свіжий розчин крохмалю (1%), пробірки та штативи до них (3 комплекти по 8 пробірок + 3 в окремому штативі), вимірювальні циліндри на 10 мл, скляні вимірювальні піпетки з позначками (3 шт.), скляні палички до помішування, спиртівки, сірники, затискачі для пробірок (пробіркотримачі), кольорові стікери, водяна баня, нагріта до 60°C, порцелянова накладка на водяну баню для утримання пробірок, кристалізатор з холодною водою.

### Хід роботи:

У штатив ставлять 3 рядки по 8 пробірок з однаковою кількістю води (по 5 мл), куди додають по декілька краплин розчину І в КІ та перемішують. Кінцевий розчин повинен бути насиченого жовтого кольору.

У три окремі пробірки наливають по 2 мл солоду (настій підсушеного пророслого насіння ячменю). На пробірки прикріплюють стікери з номерами – №1, №2, №3 (можна замінити етикетками різного кольору).

Пробірку №3 нагрівають над спиртівкою до інтенсивного закипання солоду, далі – охолоджують до кімнатної температури в кристалізаторі з холодною водою.

Далі в пробірки з солодом додають по 5 мл розчину крохмалю, перемішують. Пробірку №1 залишають в штативі на лабораторному столі при кімнатній температурі (фіксують за показниками кімнатного лабораторного термометру). Пробірки №2 (стандартна солодова

втяжка з розчином крохмалю) та №3 (прокип'ячена солодова втяжка з розчином крохмалю) вміщують у водяну баню, нагріту до 60°C.

Через певний інтервал часу (що вказаний в таблиці) скляними піпетками відбирають проби з кожної пробірки з сумішшю крохмалю та солоду і вносять їх у відповідні пробірки з розчином І в КІ (по 2-3 краплини). Відзначають колір суміші, фіксують інтенсивність гідролізу. Гідроліз крохмалю вважається завершеним, коли при черговому додаванні крохмалю в розчин І в КІ колір суміші не змінюється.

Результати дослідження занести в таблицю, зафарбувавши комірки таблиці у відповідності до кольору піддослідних сумішей, та відзначити ступінь гідролізу крохмалю відповідно до умовних позначок.

### Звітна таблиця

Умови дослідження	Інтервал відбору проб від початку дослідження, хв								Час гідролізу крохмалю, хв
	0	2	5	10	15	20	30	40	
Кімнатна температура									
Температура 60°C									
Початкова температура 100 °С, базова 60°C									

**Умовні позначки: "+++"/> - слабкий гідроліз; "++"/> - середній гідроліз; "+" - сильний гідроліз; "-" - гідроліз завершено повністю, або гідролізу немає.**

У висновках описати хід гідролізу крохмалю при різних умовах, пояснивши одержані результати.

Висновки:

---



---



---



---



---



---



---



---



---



---



---



---



---



---



---



---



---



---



---



---



---



---

### Контрольні запитання:

1. За якими параметрами можна проаналізувати швидкість проходження ферментативної реакції?
2. Які внутрішні умови впливають на активність ферментів рослинних клітин?
3. Які зовнішні умови впливають на активність рослинних ферментів дихального субстрату?
4. До якого класу ферментів належить амілаза, і яку функцію виконує в організмі рослин?

Дата захисту \_\_\_\_\_ Оцінка \_\_\_\_\_ Підпис викладача \_\_\_\_\_

## Робота №9. Кількісні показники дихання

**Мета:** Сформувати поняття про інтенсивність дихання та дихальний коефіцієнт як кількісні показники перебігу процесу дихання в різних рослинних об'єктах.

**Завдання:**

3) Навчитися визначати показник інтенсивності дихання рослинних об'єктів за кількістю виділеної кислоти методом титрування;

4) Навчитися визначати дихальний коефіцієнт за допомогою апарату Веска.

Література: Фізіологія рослин: практикум /О.В. Брайон та ін. – К.: Вища школа, 1995. – 191 с. – робота № 45, №46.

**До заняття:** письмово дати визначення поняттям:

Дихання рослин – \_\_\_\_\_

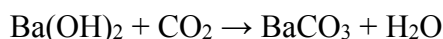
Дихальний коефіцієнт – \_\_\_\_\_

Інтенсивність дихання – \_\_\_\_\_ - \_\_\_\_\_

Аліквота – \_\_\_\_\_

### Завдання 1. Визначення інтенсивності дихання за кількістю виділеної вуглекислоти.

**Пояснення:** Дихання – складний процес, що є інтегральним показником метаболізму рослини. Процес супроводжується поглинанням кисню та виділенням вуглекислого газу. Відповідно, інтенсивність дихання можна визначити або за кількістю поглинутого кисню, або за кількістю виділеного вуглекислого газу. Дану величину досить просто визначити непрямим шляхом, помістивши піддослідну рослину в замкнену посудину над водним розчином будь-якого лугу. Найкращим об'єктом для даного дослідження є проросле насіння, в якості лугу краще брати гідроксид барію. Вуглекислота, яка виділяється рослинами, вступає в реакцію:



В результаті реакції концентрація розчину зменшиться.

Надлишок бариту титрують розчином соляної або щавлевої кислоти (підібравши концентрацію за аліквотою) в присутності фенолфталеїну до повного зникнення червоного (рожевого) забарвлення. Достовірні результати отримують, порівнюючи величини використаної кислоти в піддослідній і контрольній колбах.

**Об'єкт:** проросле насіння пшениці (*Triticum vulgare*) або іншого злаку, соняшника (*Helianthus annuus*) або рицини, а також гороху (*Pisum sativum*) чи іншої бобової культури.

**Матеріали та обладнання:** 0, 025 н. розчин  $\text{Ba}(\text{OH})_2$ , 0,025 н. розчин  $\text{HCl}$ , бюретки для титрування з надітими на кінець великими пробками, маленькі скляні воронки, великі штативи для кріплення обладнання, фенолфталеїн (розчин), терези з вагами, електронні ваги, конічні плоскодонні колби на 250-300 мл з резиновими пробками, в які вмонтовано знизу невеликі металеві гачки, марля, нитки, ножиці, пінцети.

### Хід роботи

Відбирають наважки пророслого насіння вагою близько 10 г. Вміщують об'єкти в марлеві мішечки, замотують нитками, прикріплюють до гачків на пробкових кришках так, щоб об'єкт до дна не доставав. В колбу вливають 10 мл розчину  $\text{Ba}(\text{OH})_2$ , додають 2-3 краплини фенолфталеїну і швидко закривають пробкою з прикріпленим мішечком. Одночасно готують таку ж колбу, але без рослинних об'єктів.

Колби залишають на 40-60 хв. (час залежить від величини відібраного матеріалу, чим більша вага об'єкту, тим менше часу потрібно для проведення дослідження). Протягом всього часу

колби одночасно періодично колихають (**розчин не повинен торкатися насіння!**), щоб карбонат барію не утворив на поверхні суцільну плівку.

Протягом досліду забарвлення розчину має бути яскраво-рожевим. Якщо колір блідий, це вказує на повне використання бариту на зв'язування CO<sub>2</sub>. В цьому випадку в дослідну і контрольну колби доливають по 5 мл розчину гідроксиду барію.

Коли час досліду сплине, колбу з насінням швидко відкривають і приєднують до пробки на бюретці з розчином кислоти. Таку ж операцію проводять з контрольною колбою. Для отримання більш достовірних результатів операцію слід проводити різним студентам одночасно, за командою викладача або колеги з робочої групи.

Луг титрують 0,025н. розчином HCl. Титрування здійснюють до повного зникнення рожевого відтінку.

Результати записують в таблицю:

Об'єкт	Наважка, г	Взято Ba(OH) <sub>2</sub> , мл	Час витримки насіння в колбах, хв			Кількість HCl, мл	
			початок	кінець	тривалість	контроль	дослід

Інтенсивність дихання досліджених об'єктів визначають за формулою:

$$I = \frac{(a - b) \times 0,55}{P t}$$

a – результат титрування контрольної колби (мл соляної кислоти), b – результат титрування дослідної колби (мл соляної кислоти), 0,55 – кількість мг вуглекислого газу, що еквівалентна 1 мл 0,025 н. соляної кислоти; P – наважка піддослідного об'єкту, г; t – час експозиції, в годинах. Після проведення розрахунків результати вносять в таблицю:

Об'єкт	Інтенсивність дихання, мг CO <sub>2</sub> /г × год

Порівняти інтенсивність дихання різних рослинних об'єктів. Зробити висновок, чи відрізняється цей параметр у досліджених організмів, і у якого об'єкту показник найвищий.

Висновки:

---



---



---



---



---



---



---



---

## Завдання 2. Визначення дихального коефіцієнту (ДК) у різних груп сільськогосподарських культур.

**Пояснення:** Дихальний коефіцієнт – це відношення об'єму виділеного при диханні  $\text{CO}_2$  до об'єму поглиненого  $\text{O}_2$ . ДК залежить від дихального субстрату, тобто від тієї речовини, що окислюється. При окисленні вуглеводів ДК дорівнює 1. При окисленні жирів поглинається більше кисню, ніж при окисленні білків. При окисленні органічних кислот ДК більше 1.

**Об'єкт:** проросле насіння пшениці (*Triticum vulgare*), соняшника (*Helianthus annuus*) та гороху (*Pisum sativum*).

**Матеріали та обладнання:** електронні ваги, прилад для визначення ДК, пінцет, фільтрувальний папір, ножиці, смуга міліметрового паперу, піпетки, сухі гранули КОН, розчин фуксину, гумова груша, олівець або стеклограф, пластилін.

### Хід роботи

В прилад для вимірювання дихального коефіцієнту (рис. 12) насипають 10 г пророслого насіння, щільно закривають кран, прикріплюють газовідвідну трубку до трубки манометра на супровідному стенді. В трубку манометра, поряд з якою прикріплена смужка міліметрового паперу, заздалегідь вносять невелику краплю розчину, зафарбовану фуксином. Відмічають нижній меніск краплі, коли вона почне рухатися (олівцем на смужі міліметрового паперу). Через 5 хв. відмічають різницю відстані, яку пройшла крапля (в міліметрах). Це формально відповідає різниці поглинутого кисню і виділеного  $\text{CO}_2$  (коефіцієнт А). Якщо краплина рухається в бік **ВІД** газовимірного приладу, тобто загальний об'єм газів збільшується, значення коефіцієнту А від'ємне. Якщо краплина рухається **В БІК** приладу, тобто загальний обсяг газів зменшується, значення коефіцієнту А позитивне.

По завершенні вимірів відкривають кран приладу, вирівнюють показники води в колінах манометру. В нижню частину приладу через спеціальний отвір, закритий пробкою, насипають 2 г гранульованого КОН. Закривають отвір пробкою, перекривають кран приладу і повторюють дослід.

Другий показник відстані, пройденої краплиною за 5 хв. (коефіцієнт В) – це об'єм поглинутого кисню, оскільки  $\text{CO}_2$  з'єднався з лугом. Це значення – завжди позитивне.

Об'єм  $\text{CO}_2$  дорівнює різниці між В та А ( $\text{CO}_2 = \text{B} - \text{A}$ ).

при розрахунках слід враховувати знак значень коефіцієнтів.

Дослід повторюють з пророслим насінням кожної культури, вимірювання роблять в двох повторностях. Отримані результати записують в таблицю.

Об'єкт	Відстань, що пройдена краплею за 5 хв						Величина ДК ( $\text{B} - \text{A}$ )/ $\text{B} = \text{V}(\text{CO}_2) / \text{V}(\text{O}_2)$
	Без луку (А)			З лугом (В)			
	1	2	середнє	1	2	середнє	



Роблять висновок про величини дихального коефіцієнту у насіння з надлишком вуглеводів, білків та олій.

Висновки:

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

#### Контрольні питання

1. Назвіть кількісні показники дихання.
2. Як температура впливає на інтенсивність дихання?
3. Які фактори довкілля, крім температури, можуть впливати на інтенсивність дихання?
4. Які органи рослин дихають найінтенсивніше?
5. Чому звожене насіння не можна зберігати тривалий час?
6. Від яких факторів залежить значення дихального коефіцієнту?
7. Чому вищі рослини не можуть тривалий час підтримувати своє життя в анаеробних умовах, хоча й не гинуть відразу при дефіциті  $O_2$ ?

Дата захисту \_\_\_\_\_ Оцінка \_\_\_\_\_ Підпис викладача \_\_\_\_\_

## КОЛОКВІУМ «ДИХАННЯ РОСЛИН»

Теоретичні питання, винесені на співбесіду:

1. Поняття про обмін речовин. Анаболічні та катаболічні реакції.
2. Суть та значення дихання для рослинних організмів.
3. Супутні механізми та фізіологічні процеси, що забезпечують нормальне проходження процесу дихання. Механізми регуляції дихання, характерні для рослин.
4. Співвідношення між диханням та бродінням. Типи бродіння, їх перебіг.
5. Можливі субстрати дихання. Дихальний коефіцієнт. Можливі способи визначення дихального коефіцієнту.
6. Ферменти рослинних організмів. Каталітичні системи дихання, характерні для рослин.
7. Дихання як процес дисиміляції вуглеводів, його етапи. Анаеробна фаза – гліколіз. Основні реакції, що відбуваються під час гліколізу.
8. Ферменти, що каталізують гліколітичні реакції (1-й етап дихання). Енергетичний вихід гліколізу.
9. Аеробна фаза дихання. Основні етапи. Цикл трикарбонових кислот – цикл Кребса. Основні реакції, що є складовими циклу Кребса.
10. Ферменти, що каталізують реакції Циклу Кребса. Енергетичний вихід циклу Кребса.
11. Дихальний ланцюг. Складові дихального ланцюга. Процес окислювального фосфорилування.
12. Повний баланс дихання у вищих рослин.
13. Дихальний обмін як механізм, що зв'язує між собою різні групи сполук – вуглеводи, органічні кислоти, білки, жири.
14. Гліюксилатний цикл.
15. Пентозофосфатний цикл.
16. Методи вивчення дихання у фізіології рослин. Одиниці виміру дихання в фізіології рослин.
17. Екологічні та онтогенетичні аспекти дихання рослин.

Перелік основної літератури для самопідготовки:

1. Мусієнко М.М. Фізіологія рослин. – К.: Вища школа, 1995. – 503 с.
2. Мусієнко М.М. Фізіологія рослин. – К.: Фітосоціоцентр, 2001. – 392 с.
3. Брайон О.В, та ін. Фізіологія рослин. Практикум. К.: Вища школа, 1995.
4. Иванов В.П. и др.. Практикум по физиологии растений. – М.: АКАДЕМ, 2001.
5. Куперман Ф.М. Морфофизиология растений. – М.: Высшая школа, 1997. – 287 с.
6. Полевой В.В., Саламатова Т.С. Физиология роста и развития растений. – Л.: Изда тельство ЛГУ, 1991. – 238 с.
7. Полевой В.В. Физиология растений. – М.: Высшая школа, 1989. – 464 с.
8. Якушкина Н.И. Физиология растений. – М.: Просвещение, 1993. – 351 с.
9. Гэлстон А. Жизнь зеленого растения / Гэлстон А., Девис П., Сэттер Р. – Пер. с англ. — М.: Мир, 1983. — 552 с.

## ТЕМА «МІНЕРАЛЬНЕ ЖИВЛЕННЯ РОСЛИН»

### Робота №10. Фізіологічна роль мінеральних елементів

*Мета:* Виявити, як впливають на фізіологічний стан клітин рослини та організму в цілому розчини солей та їх суміші, та встановити наявність в золі рослин окремих мікро- та макроелементів.

*Завдання:*

- 1) оволодіти навичками розпізнавання мікрокристалів, що утворюються в результаті якісних реакцій на мікро- та макроелементи;
- 2) дослідити явища, які є проявом антагонізму між одновалентними та двовалентними катіонами.

*Література:*

1. Фізіологія рослин. Практикум /за ред. проф. М.М. Мусієнка. – Київ: Вища школа, 1995. – 191 с. – робота №53, 61
2. Викторов Д.П. Малый практикум по физиологии растений. – М.: Высшая школа, 1983. – 135 с.: робота №40
3. Векирчик К.Н. Физиология растений. Практикум. – К.: Высшая школа, 1984. – 240 с.: робота №68, 69.

*До заняття:* письмово дати визначення поняттям:

Зола рослин – \_\_\_\_\_

Макроелементи – \_\_\_\_\_

Мікроелементи – \_\_\_\_\_ - \_\_\_\_\_

Ультрамікроелементи – \_\_\_\_\_

Фізіологічний антагонізм іонів – \_\_\_\_\_

Фізико-хімічний антагонізм іонів – \_\_\_\_\_

Фізико-хімічний синергізм іонів – \_\_\_\_\_

### *Завдання 1. Проведення мікрохімічного аналізу золи.*

*Пояснення:* Органи рослин складаються з клітин, що мають різні функції та різний хімічний склад. В процесі обробки високими температурами рослинні тканини втрачають воду та органічні речовини, що розкладаються; залишок – зола – складається переважно з нелетких неорганічних компонентів. Для виявлення окремих складових частин рослинної золи використовують якісні реакції, в результаті яких утворюються характерні кристали або забарвлення розчину, утворюється специфічний осад. Такий аналіз дозволяє виявити наявність в рослинних рештках макро- та мікроелементів.

*Об'єкт:* зола різних частин рослин.

*Матеріали та обладнання:* 10% розчин соляної кислоти, дистильована вода, аміак, 1% розчини: азотнокислого амонію, молібдату амонію в 15% азотній кислоті, жовтої кров'яної солі, сульфату талію, сірчаної кислоти, фосфату натрію; скляні палички, пробірки, паперові фільтри, скляні лійки, предметні скельця, мікроскопи, електроплитка.

### **Хід роботи**

Частина мінеральних речовин, що входять до складу золи розчинна в кислоті, половина – у воді. Тому з дослідного зразка готують 2 розчини – кислотний та водний.

У дві пробірки потрібно насипати по 0,30 см<sup>3</sup> золи та додати в першу 2 мл розчину 10% соляної кислоти (HCl), в другу – 2 мл води (H<sub>2</sub>O). Добре розмішати скляною паличкою та відставити на 15 хв. Потім профільтрувати досліджувані розчини крізь складчастий фільтр у чисті пробірки.

Реакції проводять на предметних скельцях. На відстані 1-1,5 см наносять краплину витяжки золи (кислої або водної, в залежності, який елемент потрібно виявити) і реактиву. Повільно та обережно з'єднують ці дві краплини «містком». Відбувається реакція при взаємодії розчину з реактивом і утворюються кристали, характерні для того чи іншого елемента. (Див. рис. та табл.)

Слід зазначити, що великі та чіткі кристали утворюються при повільному обережному з'єднанні крапель скляною паличкою, а дрібні, малопомітні – при швидкому та повному перемішуванні краплин.

Утворені кристали розглядають під малим та великим збільшенням, замальовують, наводять рівняння реакції, результати якої спостерігають під мікроскопом.

Для виявлення складових частин рослинної золи використовують реактиви згідно таблиці:

Елемент	Витяжка золи	Примітка	Реактив	Форма та колір кристалів
K	водна	Краплину водної витяжки золи <i>підсушити</i> , потім додати краплину реактиву, з'єднати.	Комплексна сіль – Na <sub>2</sub> PbCu(NO <sub>2</sub> ) <sub>6</sub>	Кубики, ромби чорного та темно-коричневого кольору.
Cl	водна	Краплину водної витяжки золи <i>підсушити</i> , потім додати краплину реактиву, з'єднати.	Сульфат талію (або нітрат талію) – TlSO <sub>4</sub>	Кристали хресто- та мечоподібної форми.
Ca	кислотна	Нанести краплину кислотної витяжки та реактиву, обережно з'єднати, а потім все <i>підсушити</i> .	1% розчин сірчаної кислоти – H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Голчасті (як у сосни) кристали гіпсу, які потім об'єднуються в зірочки, що нагромаджуються одна на одну, або пластинки.
Mg	кислотна	Краплину кислотної витяжки <i>нейтралізувати</i> аміаком. Потім дугоподібно з'єднати з краплиною реактиву.	Аміак – NH <sub>3</sub> , фосфат натрію – Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	Квадрати, зірки, крила, прямокутники.
P	кислотна	Нанести краплину кислотної витяжки та реактиву, обережно з'єднати, а потім все <i>підсушити</i> .	1% розчин молібдату амонію 15% азотній кислоті – (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub>	Жовто-зелені кристали круглої, овальної, квадратної та ромбічної форми.
Sr	кислотна	Нанести краплину кислотної витяжки та реактиву, обережно з'єднати, а потім все <i>підсушити</i> .	1% розчин азотнокислого стронцію – Sr(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Мілкі «пісочні» кристали.
Fe	кислотна	З'єднані краплини <i>не сушити</i> , реакцію спостерігати візуально (без мікроскопа)	1% розчин жовтої кров'яної солі – K[Fe(CN) <sub>6</sub> ]	Пляма розчину яскраво-голубого кольору.

Замалювати кристали, виявлені на препаратах. Записати рівняння реакцій, що призвели до їх появи

**Рис. 13. Нерозчинні мікрокристали – результат якісних реакцій на мінеральні елементи в золі рослин.**

На основі отриманих даних зробити висновок про склад дослідженої рослинної золи.

Висновки:

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

**Завдання 2. Визначення антагонізму іонів на рівні рослинної клітини**

*Пояснення:* Фізіологічний антагонізм іонів проявляється як між різними іонами однакової валентності, так і між іонами різної валентності. Найбільш яскравий приклад – антагонізм між одно- та двовалентними катіонами, зокрема, між калієм та кальцієм. Про те, що катіони  $K^+$  і  $Ca^{2+}$  зумовлюють різну фізіологічну дію, свідчить різна форма плазмолізу, яку вони викликають у рослинних клітинах.

*Об'єкт:* цибулина цибулі городньої (*Allium cepa*), що містить антоціан.

*Матеріали і обладнання:* 1 М розчин  $KNO_3$ , 1 М розчин  $Ca(NO_3)_2$ , суміш 1 М розчинів  $KNO_3$  і  $Ca(NO_3)_2$  в співвідношенні 9:1, мікроскопи, предметні і покривні скельця, скальпелі, леза, препарувальні голки, пінцети, скляні палички або піпетки.

**Хід роботи:**

З епідермісу луски цибулини цибулі, що містить антоціан, готують тонкі зрізи – 3 шт. Один кладуть на предметне скло у краплину 1 М розчину  $KNO_3$ , другий – у 1 М розчин  $Ca(NO_3)_2$ , третій зріз – у краплину суміші розчинів. Накривають зрізи покривними скельцями, під мікроскопом знаходять непошкоджені клітини синьо-фіолетового кольору і залишають препарати на 20-30 хв. Через вказаний час повторно розглядають їх. Слід відзначити, який тип плазмолізу (кутовий, увігнутий, опуклий, ковпачковий, судорожний) буде спостерігатися у чистих розчинах солей, який – у суміші солей, і наскільки він інтенсивний (типи плазмолізу визначають за рисунком 4). Препарати замалювати

А

Б

В

Рис. 14. Плазмоліз в клітинах епідерми цибулини цибулі: А – в розчині  $KNO_3$ , Б – в розчині  $Ca(NO_3)_2$ , В – в суміші  $KNO_3$  і  $Ca(NO_3)_2$

Висновки:

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### Завдання 3. Визначення антагонізму іонів на рівні цілої рослини

*Пояснення:* Односольові розчини отруйні для живого організму. Рослини, що вирощувалися на такому розчині спочатку пригнічувались, а потім гинули. Зокрема, розчин очищеної солі  $NaCl$ , який відповідає концентрації морської води, отруйний для рослин. Шкідлива дія цього розчину зменшується, якщо додати до нього іншу сіль. Зниження чи повне зняття шкідливої дії на рослину одного іона іншим іоном одержало назву фізіологічного антагонізму, а розчини, складені з урахуванням взаємодії іонів, називаються фізіологічно урівноваженими.

Явище антагонізму обумовлено різним впливом окремих іонів на фізико-хімічні властивості цитоплазми. Найчастіше антагонізм можна спостерігати між одно- та двовалентними катіонами.

*Об'єкт:* проросле насіння пшениці (*Triticum vulgare*) (початок другої стадії проростання).

*Матеріали та обладнання:* стакани чи посудини на 200 мл, обклеєні папером, мірний циліндр, пропарафінена марля, білий папір для етикеток, клей або клейка стрічка, пінцет, лінійки, міліметровий папір, ножиці, 0,12 Н розчини хімічно чистих солей  $KCl$ ,  $NaCl$ ,  $CaCl_2$ , дистильована вода.

#### Хід роботи

На підготовчому етапі стакани або матеріальні банки обгортають спочатку чорним, а зверху білим папером. Наливають 200 мл розчину відповідно схеми досліду, накривають пропарафінованою марлею з отворами. Для кожного варіанту беруть пінцетом 5-10 проростків пшениці, які перед пророщуванням двічі промили дистильованою водою, вимірюють довжину корінців та пагонів так, щоб не пошкодити їх, і висаджують їх в розчини – розміщують проростки на пропарафіненій марлі так, щоб зерно знаходилося зверху, а корінці опускалися в розчин крізь невеликий отвір в тканині. Через 7-10 днів проростки виймають з розчинів, знов вимірюють довжину корінців і пагонів, і розраховують приріст.

Результати досліду записати у таблицю.

Показники	Номери посудин				
	1	2	3	4	5
розчин	KCl	NaCl	CaCl <sub>2</sub>	KCl + CaCl <sub>2</sub>	KCl + NaCl + CaCl <sub>2</sub>
Об'єм, мл	200 мл	200 мл	200 мл	KCl – 150 мл CaCl <sub>2</sub> – 50 мл	KCl – 50 мл, NaCl – 50 мл CaCl <sub>2</sub> – 100 мл
Середня довжина корінців проростків, см:					
а) до дослідю					
б) після дослідю					
Приріст корінців за час дослідю, см					
Середня довжина надземної частини, см:					
а) до дослідю					
б) після дослідю.					
Приріст надземної частини за час дослідю, см					

Порівнявши дані, зробити висновок про те, як впливають на ріст і розвиток пагонів і коренів чисті розчини, суміші солей, і зробити припущення, між якими йонами, за результатами дослідю, спостерігається явище фізіологічного антагонізму.

Висновки:

---



---



---



---



---



---



---



---



---



---

#### Контрольні запитання:

1. Яким способом визначають потребу рослин в елементах мінерального живлення?
2. Серед мінеральних елементів 16 визначають як «основні елементи живлення». Назвіть ці елементи і поясніть, яким є критерій виділення елементів до означеної групи.
3. Якою є роль макроелементів?
4. Якою є фізіологічна роль мікроелементів?
5. Якою є роль ультрамікроелементів?
6. Що розуміють під фізіологічно-зрівноваженим розчином?
7. Яке значення антагонізм іонів має для рослин?
8. Які органи рослин більше реагують на іонний склад середовища?

Дата захисту \_\_\_\_\_ Оцінка \_\_\_\_\_ Підпис викладача \_\_\_\_\_

## Робота №11. Надходження і рух елементів тілом рослини

**Мета:** Перевірити здатність корневих систем піддослідних рослин змінювати рН поживного розчину.

**Завдання:**

- 1) оволодіти навичками виготовлення розчинів із заданим значенням рН;
- 2) сформулювати поняття про буферні властивості кореневої системи рослин;
- 3) навчитися користуватися портативним рН – метром для вимірювання кислотності розчинів.

**Література:**

Фізіологія рослин. Практикум /за ред. проф. М.М. Мусієнка. – Київ: Вища школа, 1995. – 191 с.  
– робота №62

**До заняття:** письмово дати визначення поняттям:

Водневий показник – \_\_\_\_\_

Фізіологічно кислі солі – \_\_\_\_\_

Фізіологічно лужні солі – \_\_\_\_\_

### Завдання 1. Дослідження дії кореневої системи на рН розчинів.

**Пояснення:** Вплив коренів рослин на навколишнє середовище можна простежити шляхом закладки вегетаційних дослідів у водних культурах. Активна кислотність має велике значення в процесі обміну і дуже впливає на ріст і розвиток рослин. Від того, які солі входять до складу поживного розчину водної культури (фізіологічно лужні чи фізіологічно кислі), залежить зміна реакції його в той або інший бік. Зміну рН розчину визначають в основному солі, до складу яких входить нітроген, оскільки саме нітроген засвоюється рослиною швидше і в більшій кількості, ніж інші іони. Використання фізіологічно кислої солі  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  призводить до поступового закислення поживного розчину. Використання фізіологічно лужної солі, такої як  $\text{NaNO}_3$ , спричиняє поступовий зсув реакції розчину в бік лужної. Крім того, коренева система живої рослини здатна активно змінювати реакцію поживного середовища, виділяючи йони  $\text{H}^+$ , органічні кислоти, а також за рахунок функціонування клітинних стінок корневих волосків, які мають іонообмінні властивості.

**Об'єкт:** проростки пшениці (*Triticum vulgare*) або кукурудзи (*Zea mays*) з добре розвинутою кореневою системою.

**Матеріали та обладнання:** електронні ваги, торсіонні важелі, реактиви для виготовлення розчину Кноппа (з розрахунку на 1 л), дистильована вода (1 л), склянки (або колби) на 100-150 мл, скляний мірний циліндр, портативний рН-метр, 0,1 н. розчин  $\text{HCl}$ , 0,1 н. розчин  $\text{NaOH}$ , скляні дозатори (крапельниці), пінцети, довгі скляні палички

### Хід роботи

За допомогою електронних та торсіонних важелів відміряють реактиви, необхідні для виготовлення поживного розчину Кноппа:

Нітрат кальцію  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  – 1,000 г, хлорид калію  $\text{KCl}$  – 0,125 г, сульфат магнію водний  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,250 г, дигідрофосфат калію  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 0,250 г, хлорид заліза  $\text{FeCl}_3$  – кілька кристалів (або 1-2 краплини концентрованого розчину).

Дану кількість солей розчиняють у невеликій кількості дистильованої води і доводять в мірному посуді, постійно перемішуючи, до об'єму 1 л.

Відбирають 50 мл виготовленого розчину, розводять його дистильованою водою у співвідношенні 1:10. У п'ять хімічних склянок наливають по 50 мл розведеного розчину. Вимірюють кислотність. Користуючись розлитими в крапельниці 0,1 н. розчином  $\text{HCl}$  та 0,1 н. розчином  $\text{NaOH}$ , створюють в склянках наступні рівні рН: перша – 4,0, друга – 5,0, третя 6,0, четверта – 7,0, п'ята – 8,0.



Відбирають п'ять пучків проростків (по 3-5 рослин) з однаковим об'ємом кореневої системи. Об'єм вимірюють за допомогою мірного скляного циліндру, при необхідності додаючи нові рослини або прибираючи зайві корінці. Пучки рослин за допомогою пінцету і скляних паличок вміщують у склянки з відтитрованими розчинами, стежачи, щоб корені були занурені повністю. Через кожні 20 хв вимірюють значення рН в склянках. На основі 5-ти замірів за кожним варіантом на папері з міліметровою розміткою будують графічну криву зміни рН розчину, де по осі Х відкладають часові інтервали між замірами, а по осі Y – показники рН в кожний окремий момент вимірювання.

**Рис. 16. Динаміка зміни рН розчинів під дією кореневої системи рослин.**

Отриманий результат описують у висновках.

Висновки:

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

**Контрольні запитання:**

1. Яка суміш називається розчином Кнопа? З якою метою даний розчин використовується у фізіології рослин?
2. Як відбувається поглинання мінеральних солей кореневою системою?
3. Що сприяє засвоєнню мінеральних речовин?
4. Якою є роль корневих виділень рослини?
5. Як фізіологічно кислі і фізіологічно лужні солі впливають на ріст і розвиток рослини?
6. Як коренева система рослини реагує на різні концентрації йонів водню в розчині?

Дата захисту \_\_\_\_\_ Оцінка \_\_\_\_\_ Підпис викладача \_\_\_\_\_

## Робота №12. Визначення кількості нітратів в рослині.

**Мета:** Оволодіти методикою визначення вмісту нітратів в рослинах.

**Завдання:**

- 1) Сформуувати уявлення про перебіг якісної реакції на нітрати з використанням дифеніламіну;
- 2) Оволодіти навичками проведення експрес-проби на вміст нітратів у сільськогосподарській продукції

**Література:**

Векирчик К.Н. Физиология растений. Практикум. – К.: Высшая школа, 1984. – 240 с.: работа №105

Негода О.В. Лабораторний практикум з дисципліни „Фізіологія рослин”. – Київ, 2003. – 112 с.: работа №31

Фізіологія рослин. Практикум /за ред. проф. М.М. Мусієнка. – Київ: Вища школа, 1995. – 191 с. – работа №65

**До заняття:** письмово дати визначення поняттям:

Нітрати – \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Нітриди – \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Солі амонію – \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Селітра – \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

### Завдання 1. Визначити вміст нітратів в рослинах.

**Пояснення:** В рослину азот надходить переважно у вигляді аміачних і нітратних сполук. Поглинутий кореневою системою азот нітратів відновлюється в живих клітинах коренів до аміаку, який, зв'язуючись з кетокислотами, утворює амінокислоти. Частина нітратних сполук, що поглинута коренем, рухається з водною від кореня по стеблу до листків. У листках відбувається процес фотохімічного відновлення нітратів до утворення аміаку і подальшого включення його в синтетичні процеси. Нітрати здатні накопичуватися в тканинах рослин, потім з їжею потрапляють в організм людини і справляють на нього негативну дію.

**Об'єкт:** коренеплід моркви посівної (*Daucus carota* subsp. *sativus*), буряку столового (*Beta vulgaris*), бульба картоплі (*Solanum tuberosum*), листя капусти городньої (*Brassica oleracea*), плоди огірка звичайного (*Cucumis sativus*)

**Матеріали та обладнання:** 0,5% розчин дифеніламіну в концентрованій сірчаній кислоті, контрольний розчин нітратів (1.631г хімічно чистого сухого  $KNO_3$  розчиняють у воді і доводять до 1 л), ручний прес або металеві терки, порцелянові чашки, марля, чашки Петрі або скляні пластинки із заглибинами, піпетки, скальпелі.

#### Хід роботи:

Метод ґрунтується на здатності дифеніламіну взаємодіяти з азотом нітратних сполук. При цьому з'являється синє забарвлення. Для визначення нітратів з контрольного розчину готують такі концентрації: 1000 (контрольний розчин), 500, 250, 125, 10 мг  $NO_3^-$  на 1л. З дослідних рослинних об'єктів віджимають сік: за допомогою ручного пресу або ж натирають на терці і віджимають сік за допомогою марлі в порцелянові чашки.

На дно чашки Петрі, яку ставлять на білий папір, або на спеціальну скляну (пластикову) пластинку із заглибленнями наносять по краплі стандартних розчинів різної концентрації, а також краплину соку досліджуваної рослини. Далі до стандартних розчинів і проб додають по одній краплі дифеніламінового реактиву. Через 1-2 хвилини з'являється синє забарвлення, яке далі змінюється. Тому оцінювати його треба відразу, порівнюючи з стандартними розчинами. Їх забарвлення оцінюється як шкала від 5 до 1, по мірі зниження концентрації.

Результати дослідів оцінити за п'ятибальною системою і записати в таблицю.

Об'єкт	Орган рослини	Вміст нітратів в балах	Примітка

Зробити висновок про кількість вільних нітратів у досліджених рослинах, та чи відповідають одержані дані нормам вмісту нітратів у відповідній сільгосппродукції.

**Висновки:**

---



---



---



---



---



---



---

#### Контрольні запитання

1. Яку роль відіграють нітрати в рослині?
2. Як зовнішні та внутрішні фактори впливають на вміст нітратів в різних органах рослин?
3. Де і як нітратна форма нітрогену перетворюється на амонійну?
4. Чи є різниця між процесами накопичення нітратів і нітритів в рослинному організмі?
5. Які норми вмісту нітратів в рослинній продукції?

Дата захисту \_\_\_\_\_ Оцінка \_\_\_\_\_ Підпис викладача \_\_\_\_\_

## КОЛОКВІУМ «МІНЕРАЛЬНЕ ЖИВЛЕННЯ РОСЛИН»

Теоретичні питання, винесені на співбесіду:

1. Історія розвитку вчення про мінеральне живлення рослин.
2. Коренева система як орган поглинання та обміну речовин.
3. Ґрунт — основа кореневого живлення вищих рослин.
4. Некореневе поглинання мінеральних елементів рослиною.
5. Класифікація мінеральних елементів, які складають тіло рослини, загальна характеристика основних груп.
6. Роль адсорбції в поглинанні мінеральних солей.
7. Транспортування іонів через плазматичну мембрану.
8. Дальній транспорт елементів мінерального живлення по рослинному організму.
9. Макроелементи: загальна характеристика, фізіолого-біохімічне значення в житті рослини. Поняття про органогени.
10. Фізіолого-біохімічне значення окремих макроелементів в житті рослини (калій, кальцій, фосфор, магній, сірка).
11. Мікроелементи: загальна характеристика, значення, фізіологічна роль в житті рослини.
12. Фізіолого-біохімічне значення окремих мікроелементів в житті рослини (залізо, мідь, марганець, цинк, хлор, натрій).
13. Ультрамикроелементи: характеристика, фізіолого-біохімічне значення в житті рослини.
14. Форми нітрогенного живлення, доступні для рослин. Амідни та їх роль у рослинні.
15. Антагонізм іонів на рівні клітини та рослини. Синергізм.
16. Метаболізм нітрогену в організмі рослин. Кругообіг нітрогену в біосфері.
17. Шляхи асиміляції аміаку в рослинні.
18. Сучасні уявлення про механізм відновлення молекулярного азоту.
19. Симбіотичні системи рослин та їх роль у фіксації нітрогену.
20. Нітрогеназний комплекс, регуляція його. Амінокислоти та амідни в рослинах.
21. Білки насіння.
22. Фізіологічні основи використання мінеральних добрив.
23. Елементи мінерального живлення як можливе джерело забруднення навколишнього середовища.

Перелік основної літератури для самопідготовки:

1. Мусієнко М.М. Фізіологія рослин. – К.: Вища школа, 1995. – 503 с.
2. Мусієнко М.М. Фізіологія рослин. – К.: Фітосоціоцентр, 2001. – 392 с.
3. Брайон О.В, та ін. Фізіологія рослин. Практикум. К.: Вища школа, 1995.
4. Иванов В.П. и др.. Практикум по физиологии растений. – М.: АКАДЕМ, 2001.
5. Куперман Ф.М. Морфофизиология растений. – М.: Высшая школа, 1997. – 287 с.
6. Полевой В.В., Саламатова Т.С. Физиология роста и развития растений. – Л.: Изда тельство ЛГУ, 1991. – 238 с.
7. Полевой В.В. Физиология растений. – М.: Высшая школа, 1989. – 464 с.
8. Якушкина Н.И. Физиология растений. – М.: Просвещение, 1993. – 351 с.

## ТЕМА «ФОТОСИНТЕЗ»

### Листок як орган фотосинтезу. Пігменти листа

#### Робота №13. Пігменти листка, їх фізичні властивості.

**Мета:** Вивчити хімічну структуру пігментів зеленого листа, їх фізичні властивості.

**Завдання:**

- 1) оволодіти навичками виготовлення спиртової витяжки пігментів зеленого листка;
- 2) сформувані уявлення про спектри поглинання пігментів рослин;
- 3) пропостерігати явище флуоресценції хлорофілу.

**Література:** Векирчик К.Н. Физиология растений. Практикум. – К.: Высшая школа, 1984. – 240 с.: работа № 36, 37, 38, 42, 43, 44,  
Фізіологія рослин. Практикум /за ред. проф. М.М. Мусієнка. – Київ: Вища школа, 1995. – 191 с. – робота №23, 24, 25, 26, 32.

**До заняття:** Скласти структурні формули піддослідних пігментів (завдання 1). Письмово дати визначення поняттям:

Хлорофіли – \_\_\_\_\_

Каротини – \_\_\_\_\_

Ксантофіли – \_\_\_\_\_

Витяжка – \_\_\_\_\_

Флуоресценція – \_\_\_\_\_

Хроматографія – \_\_\_\_\_

#### Завдання 1. Отримання витяжки рослинних пігментів

**Пояснення:** Пігментна система хлоропластів складається з зелених (хлорофіли) та жовтих (каротини і ксантофіли) пігментів. За хімічною природою хлорофіли „а” і „в” – складні ефіри дикарбонової кислоти хлорофіліну і двох спиртів – метилового і фітолу

Для хімічних формул

Каротини являють собою ненасичені вуглеводні ( $C_{40}H_{56}$ ), ксантофіли – це киснепохідні каротинів ( $C_{40}H_{56}O_2$ ,  $C_{40}H_{56}O_4$  та ін.).

Для хімічних формул

*Об'єкт:* листки аспідистри високої (*Aspidistra elatior*), пеларгонії садової (*Pelargonium hortorum*), гібіскуса китайського (*Hibiscus rosa-sinensis*), сингоніума (*Syngonium*). або інших кімнатних рослин з темно-зеленими листками, коренеплід моркви посівної (*Daucus carota* subsp. *sativus*)

*Матеріали та обладнання:* фарфорові ступки з товчачиками, набір пробірок в штативі, скляні воронки, фільтрувальний папір (для фільтрації витяжки), ножиці, металеві терки, скляні лопаточки для роботи з сухими реагентами, скляні палички, етиловий спирт, бензин (хімічно чистий), сухий карбонат кальцію  $\text{CaCO}_3$ .

#### Хід роботи:

2-3 листки кімнатних рослин розрізають ножицями на невеликі шматочки, кладуть у фарфорову ступку, додають трохи  $\text{CaCO}_3$  (для нейтралізації кислот клітинного соку), близько 0,5 мл етилового спирту і розтирають до отримання однорідної кашоподібної маси. Додають в ступку 5-10 мл етилового спирту, перемішують скляною паличкою і відфільтровують спиртову витяжку пігментів листа у чисту суху пробірку через сухий фільтрувальний папір.

Коренеплід моркви натирають на терці, вміщують шпателем в пробірку, заливають бензином, дають постояти не менше 10 хвилин (періодично вміст пробірки перемішують скляною паличкою). Після цього рідину зливають в іншу суху пробірку.

Розглядають отримані витяжки у проникаючому світлі, відзначаючи їх колір. Замальовують пробірки з витяжками.

1

2

**Рис. 17. Витяжки рослинних пігментів: 1 – спиртова витяжка пігментів листка \_\_\_\_\_, 2 – бензинова витяжка пігментів коренеплоду моркви.**

Роблять висновок про те, які рідини дозволяють екстрагувати пігменти з органів рослин; за забарвленням розчинів – висновок про те, яку частину спектру наявні в них пігменти не поглинають, а відбивають.

Висновки:

---

---

---

---

---

#### Завдання 2. Дослідження оптичних властивостей пігментів

*Пояснення:* До фізичних властивостей хлорофілу відноситься його здатність флуорисциувати. При поглинанні хлорофілом кванту енергії світла один з  $\pi$ -електронів переходить на більш високий енергетичний рівень і молекула "збуджується". Але дуже швидко електрони повертаються у своє вихідне положення. Цей процес супроводжується вилученням світла більшої довжини хвилі, тобто флуорисциується.

*Об'єкт:* Спиртовий витяг хлорофілу, розчин каротину та ксантофілу.

*Матеріали та обладнання:* спектроскопи, чорний папір, електрична лампа денного світла на 200 Вт.

#### **Хід роботи:**

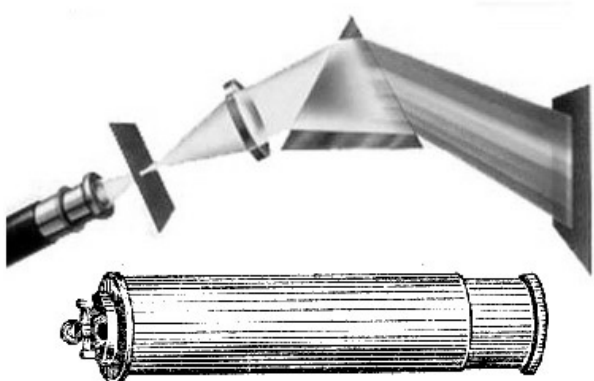
Спиртовий розчин пігментів листа розглядають у прямих променях світла, витяжка буде зеленого кольору, тому що зелені промені не поглинаються. Якщо цей розчин роздивитися у відбитому світлі на темному фоні, він має темно-червоний колір. Розміщують пробірку зі спиртовим витягом пігментів листка на тлі чорного екрану (прямокутник матового чорного паперу) і підсвічують яскравою лампою денного світла або джерелом ультрафіолетового випромінювання. Відзначають забарвлення розчину в пробірці.

Пігменти зеленого листка поглинають світло вибірково, тобто кожен пігмент має свій спектр поглинання. Так, максимум поглинання світла хлорофілом "а" і "в" лежать у червоній і синьо-фіолетовій зонах спектру. Каротини і ксантофіли поглинають світло тільки у зонах синьо-фіолетових кольорів.

Щоб розглянути спектри поглинання пігментів листа, у пробірку наливають 3-4 мл спиртового розчину, закріплюють її у лапці пробіркодержача, підсвічують лампою денного світла і дивляться у спектроскоп (рис. 18). На суцільній смузі спектру денного світла мають вирізнятися темні смуги, що відповідають спектру поглинання пігментів листка. Треба порівняти за допомогою спектроскопу спектри поглинання концентрованого і розведеного розчинів пігментів.

Аналогічно треба розглянути і бензиновий розчин жовтих пігментів.

Замалювати спектр сонячного проміння, спектр поглинання хлорофілів "а" і "в", каротину та ксантофілів. Замалювати явище флуоресценції.



**Рис. 18.** Портативний спектроскоп та схема принципу дії.



**Рис. 19.** Спектр сонячного світла («веселка»)

**Рис. 20.** Спектр поглинання хлорофілів (витяг пігментів листка)

**Рис. 21.** Спектр поглинання каротиноїдів (бензиновий витяг пігментів коренеплоду моркви)

**Рис. 22.** Флуоресценція хлорофілу під дією ультрафіолету







## Робота №14. Пігменти листка, їх хімічні властивості

*Мета:* Вивчити хімічні властивості пігментів зеленого листа.

*Завдання:*

- 1) закріпити навички отримання спиртового витягу пігментів зеленого листка;
- 2) оволодіти навичками розділення суміші пігментів за Крауссом;
- 3) сформулювати поняття про зміну рівня гідрофільності сполук хлорофілу в результаті омилення;
- 4) оволодіти навичками отримання феофітину та відновлення до хлорофілоподібних речовин.

*Література:*

1. Векирчик К.Н. Физиология растений. Практикум. – К.: Высшая школа, 1984. – 240 с.: работа № 36, 37, 38, 42, 43, 44,
2. Фізіологія рослин. Практикум /за ред. проф. М.М. Мусієнка. – Київ: Вища школа, 1995. – 191 с. – работа №23, 24, 25, 26, 32.

*До заняття:* Ознайомитися із завданнями. Скласти рівняння реакції, що відбуваються під час дослідження (завдання 2, завдання 3). Письмово дати визначення поняттям:

Фітол – \_\_\_\_\_

Хлорофілінова кислота – \_\_\_\_\_

Омилення – \_\_\_\_\_

Феофітин – \_\_\_\_\_

Магній – \_\_\_\_\_

### **Завдання 1. Розділення пігментів листа за методом Г. Крауса.**

*Пояснення:* Метод заснований на різній розчинності окремих рослинних пігментів у спирті та бензині. Ці розчинники не змішуються і складають дві фази - верхню бензинову, нижню - спиртову, завдяки чому і проходить розподіл хлорофілів і ксантофілів.

*Об'єкт:* спиртовий витяг пігментів листка кімнатної рослини (методика отримання описана в завданні №1 попередньої лабораторної роботи).

*Матеріали та обладнання:* чисті сухі пробірки, бензин, дистильована вода.

#### **Хід роботи:**

Для виділення ксантофілів від хлорофілів у пробірку наливають 2 мл спиртового витягу і додають 2-3 мл бензину та 2- 3 краплі води. Вміст пробірки енергійно струшують, а потім дають відстоятися. По ходу розшарування бензиновий шар (верхній) буде фарбуватися у зелений колір, спиртовий (нижній) - у жовтий колір. У бензиновому шарі знаходяться хлорофіли та каротини. Ксантофіл залишається у спиртовому шарі і зафарбовує його у золотисто-жовтий колір.

Замалювати пробірку на початку та по закінченні досліду. Позначити, які пігменти згруповані у бензиновій, а які – у водно-спиртовій фракції.

**Рис. 21. Пігменти зеленого листка, розділені за методом Крауса.**

Зробити висновки, які пігменти в процесі дослідження виявились більш гідрофільними, які – більш гідрофобними.

Висновки:

---

---

---

---

---

---

---

### Завдання 2. Омилення хлорофілу.

*Пояснення:* Хлорофіл є складним ефіром. Він реагує з лугами та кислотами. Якщо подіяти на хлорофіл лугом, можна викликати омилення ефірних груп, тобто відщеплення залишків метилового спирту та фітолу:

Для рівняння реакції

Отримана в результаті реакції натрієва сіль хлорофілінової кислоти зберігає зелене забарвлення, хоча і не таке інтенсивне, а також оптичні властивості хлорофілу, однак вона відзначається сильною гідрофільністю і легко розчиняється у воді та спирті.

*Об'єкт:* спиртовий витяг пігментів листка, розділених методом Крауса (з попереднього дослідження).

*Матеріали та обладнання:* пробірки, шпатель для роботи з сухими реагентами, NaOH або KOH в гранулах.

#### Хід роботи:

В пробірку з витяжкою пігментів листка, розділеною за методом Крауса, додають 1-2 великі гранули NaOH або KOH, енергійно збовтують і дають суміші відстоятися. В процесі омилення продукти реакції (натрієва або калієва сіль хлорофілінової кислоти, етиловий спирт, спирт фітол) будуть переходити у нижній спиртовий шар разом з ксантофілом. У верхньому бензиновому шарі залишається каротин, що позначається на зміні кольору фракцій.

Замалювати результати дослідження, підписати на рисунку вміст окремих фракцій.

### Рис. 22. Результати омилення хлорофілів у витяжці пігментів листка, розділених за методом Крауса.

У висновках описати, як в процесі дослідження змінилась (або не змінилась) гідрофільність окремих пігментів.

Висновки:

---

---

---

---

---

---

---

---

### Завдання 3. Отримання феофітину та відновлення хлорофілу.

*Пояснення:* Хлорофіл, як складний ефір, реагує з кислотами. Магній хлорофілу досить легко заміщується на два протони водню, при цьому утворюється феофітин бурого кольору та розчинна сіль магнію (хлорид, сульфат або нітрат – в залежності від використаної кислоти):

Для рівняння  
реакції

Якщо на феофітин подіяти розчинною сіллю двовалентної міді чи цинку, то на місце двох протонів водню стає метал, і зелений колір відновлюється:

Для рівняння  
реакції

*Об'єкт:* спиртовий витяг пігментів листа кімнатної рослини.

*Матеріали та обладнання:* пробірки, ручні пробіркотримачі, піпетки, спиртівки, сірники, 20%-ний розчин HCl,  $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Cu}$  або  $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Zn}$

#### Хід роботи:

У пробірку наливають 2-3 мл спиртового розчину пігментів листа, додають 1-2 краплини 20%-ного розчину HCl, збовтують. Забарвлення змінюється з зеленого на темно-брунате, випадає драглистий осад. Далі до пробірки додають кілька кришталіків ацетату міді чи цинку, або кілька краплин концентрованих розчинів цих реагентів, і нагрівають суміш до кипіння на спиртівці. Якщо реакція відбулась, розчин в пробірці стає помітно прозорим, набуває зеленого кольору в результаті утворення хлорофілоподібної речовини, що містить мідь чи цинк. Відтінок зеленого залежить від використаного металу.

Дослід замалювати,.

### Рис. 23. Взаємодія хлорофілу з кислотою (А) і солями металів (Б).

Зробити висновок про те, яка частина молекули хлорофілу відповідає за зелений колір цього пігменту, і чим цю частину можна замінити.

Висновки:

---

---

---

---

---

---

---

---

**Контрольні питання:**

1. Які пігменти містяться в спиртовій витяжці хлорофілу?
2. На якому принципі ґрунтується розподіл пігментів за Г. Краусом?
3. Як омилюється хлорофіл? Чим відрізняються продукти омилення хлорофілу від звичайного хлорофілу?
4. Чим зумовлене забарвлення хлорофілу?
5. Як відновити забарвлення феофітинової витяжки після дії на неї HCl?

Дата захисту \_\_\_\_\_ Оцінка \_\_\_\_\_ Підпис викладача \_\_\_\_\_

## Робота №15. Вміст хлорофілу в рослині

*Мета:* сформувати уявлення про методики кількісного визначення вмісту пігментів в рослині.

*Завдання:*

1) закріпити навички роботи з ФЕК-2;

2) навчитись кількісно визначати вміст хлорофілу колориметричним методом

*Література:*

Фізіологія рослин. Практикум /за ред. М.М.Мусієнка. – Київ: Вища школа, 1995. – 191 с. – робота №28.

Негода О.В. Лабораторний практикум з фізіології рослин. – К.: Фітосоціоцентр, 2003. – 112 с. – робота №20.

*До заняття:* Ознайомитися із завданнями Письмово дати визначення поняттям:

Продуктивність фотосинтезу – \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Колориметрія – \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Оптична густина розчинів – \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Амперметр – \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

### **Завдання 1. Кількісне визначення вмісту хлорофілів колориметричним методом**

*Пояснення:* Важливим показником інтенсивності процесу фотосинтезу є вміст хлорофілів *a* та *b* у фотосинтезуючих органах. Цей вміст залежить від багатьох факторів, а саме: систематичного положення піддослідної рослини, стану онтогенезу, умов освітлення, мінерального живлення, температури довкілля тощо. Кількість хлорофілів в рослині може бути визначена за допомогою вимірювання оптичного поглинання при певній довжині хвилі світла. Інтенсивність поглинання світла розчином (його оптична густина) напряму залежить від концентрації пігментів в розчині і може бути визначена за допомогою фотоелектроколориметра – ФЕКа. Кількісно визначити вміст саме хлорофілів дозволяє той факт, що для хлорофілів характерне поглинання в червоній частині спектру, а для каротиноїдів – в синій частині.

Також слід враховувати, що максимум поглинання залежить не лише від природи пігменту, але і від розчинника, що використовується для екстракції пігментів.

*Об'єкт:* листки кімнатних рослин кафедри ботаніки – хлорофітума, гібіскуса, пеларгонії тощо.

*Обладнання, матеріали, реактиви:* ФЕК (фотоелектроколориметр), вимірювальні колби на 25 мл, скляні лійки, скляні палички, ступки зі звуженим носиком, товчачики, свердла для висічок з листка, препарувальне скло, електронні ваги, ножиці, фільтрувальний папір (для фільтрування через воронку), 96% етиловий спирт, пісок, вазелін, лінійки, стандартний розчин Гьотрі.

### **Хід роботи**

Для колориметрування використовують порівняння оптичної густини витяжки пігментів листка зі стандартним розчином Гьотрі. При його приготуванні в мірну колбу на 100 мл наливають 23,5 мл 1% розчину мідного купоросу ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) та 50 мл 2% розчину двохромовокислого калію ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ). Титрують концентрованим розчином аміаку до одержання постійного яскраво зеленого забарвлення, яке не змінюється, і дистильованою водою доводять до 100 мл (до риски).

Отриманий розчин відповідає вмісту 85 мл омиленого хлорофілу у 1 л води (чи спиртового розчину).

Далі готують витяжку пігментів листка. Вимиті і підсушені фільтрувальним папером листки піддослідних рослин кладуть на препарувальне скло. За допомогою свердел вирізають з листків кружечки, пінцетом переносять їх на ваги, готуючи наважку 1 г (при необхідності кружечки ділять навпіл). Переносять наважку листків до ступки, додають трохи кварцового піску і 1-2 мл етилового спирту. Розтирають листки до одержання густої кашки. Додають ще 15 мл спирту і знову перетирають масу. Носик ступки знизу злегка змащують вазеліном, щоб не втратити фільтрат. Отриману масу відфільтровують в мірні колбочки на 25 мл. Залишок на ступці і товчачику кілька разів промивають спиртом до зникнення зеленого забарвлення і переносять на фільтр. Після завершення фільтрування витяжку в колбі доводять спиртом до об'єму в 25 мл.

Отримана витяжка готова до колориметрування.

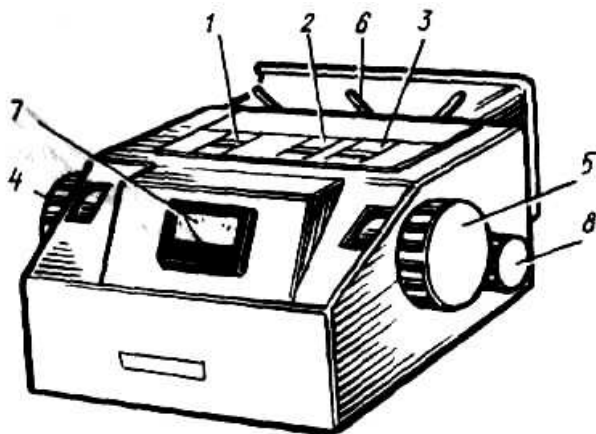


Рис. 24 Фотоелектроколориметр ФЕК-56М.

#### Хід колориметрування

1. Вмикають колориметр (рис. 24), дають йому прогрітися протягом 20-25 хв.
2. На барабанах регулятора встановлюють 0 по червоній шкалі. Шторка (6 на рисунку) має бути закрита, перекриваючи потік світла.
3. Оперуючи регулятором з написом «Нуль», виводять гальванометр на нульову позначку, вмикають червоний світлофільтр (№9).
4. Відкривають верхню кришку гальванометра, заповнюють крайню ліву кювету спиртом, крайню праву –

стандартним розчином Гьотрі.

5. Вміщують кювети в зажими так, щоб світло при відкриванні проходило крізь обидві, і закривають кришку приладу.
6. Відкривають шторку, що перекриває світловий потік. Стрілка гальванометра при цьому відхилиться вліво. Оперуючи лівим великим барабаном, встановлюють стрілку гальванометра на 0.
7. Закривають шторку, відкривають кришку. Праву кювету промивають, заповнюють чисти розчинником. Виставляють її навпроти джерела світла, закривають кришку.
8. Відкривають шторку. Стрілка гальванометра відхиляється вправо. Оперуючи правим великим барабаном регулятора, виставляють гальванометр на «0». Записують показники червоної шкали на правому барабані. Це і є показник екстинкції для розчину Гьотрі.
9. Закривають шторку, відкривають кришку. Випорожнюють праву кювету від розчинника. Прилад готовий для повторного визначення.

Дослід повторюють (пункти 4 – 9), використовуючи виготовлені заздалегідь витяжки пігментів листа. Кожну витяжку, включно з розчином Гьотрі, – досліджують двічі. Результат записують, далі для показників екстинкції, визначених для одного спиртового розчину пігментів, але в різних повторностях, знаходять середнє арифметичне.

Далі проводять розрахунки. Для визначення вмісту хлорофілу в піддослідній рослині як аксіому приймають наступну пропорцію:

$$\frac{C_1}{C_2} = \frac{V_1}{V_2}, \text{ де}$$

$C_1$  – концентрація хлорофілу за розчином Гьотрі (85 мг/л),  $C_2$  – концентрація хлорофілу в піддослідному розчині, мг/л,  $V_1$  – середнє арифметичне показників екстинкції колориметра для розчину Гьотрі,  $V_2$  – середнє арифметичне показників екстинкції колориметра для піддослідного розчину, окремо.

Тоді необхідні показники розраховуються так:

$$C2 = \frac{C1 * V2}{V1 * 40}$$

40 – коефіцієнт перерахунку концентрацій.

Аналогічним чином розраховують показники вмісту хлорофілу для кожної з приготованих витяжок. Результати записують.

Вміст хлорофілу на 1 г сирової ваги листків отримують, поділивши отриману величину на реальну вагу листків, взятих для виготовлення наважки. Якщо вага наважки становить точно 1 г, вважається, що величина C2 – це кількість хлорофілу (в грамах) в 1 г досліджених листків.

Для розрахунків

Результати заносять в звітну таблицю :

Піддослідна рослина: вид, стан листків	Вміст хлорофілу на 1 г сирової речовини

Роблять висновок про рівень вмісту хлорофілу на 1 г фітомаси в листках піддослідних об'єктів. Пояснюють різницю в даних, отриманих для різних рослин. На основі отриманих даних роблять припущення, до якого типу геліоморф належать піддослідні рослини.

Висновки:

---



---



---



---



---



---



---

#### Контрольні запитання.

1. Опишіть принцип роботи фотоколориметра.
2. Які властивості пігментів листка використані при визначенні їх вмісту за допомогою фотоколориметра?
3. Вміст яких пігментів дозволяє встановити фотоколориметричний метод?
4. Чи впливає на результат роботи використання для виготовлення витяжки пігментів різних розчинників?

Дата захисту \_\_\_\_\_ Оцінка \_\_\_\_\_ Підпис викладача \_\_\_\_\_



## Робота №16. Хімізм і енергетика фотосинтезу: кількісні та якісні показники

**Мета:** Ознайомитися з методикою кількісного та якісного визначення інтенсивності фотосинтезу

**Завдання:**

- 1) оволодіти навичками закладки досліду по отриманню фігур Сакса, навчитися пояснювати та фіксувати результати;
- 2) сформувані уявлення про пряму залежність між кольором світла та інтенсивністю фотосинтезу;
- 3) сформувані поняття про залежність між інтенсивністю освітлення та фотосинтезу;

**Література:**

Фізіологія рослин. Практикум /за ред. проф. М.М. Мусієнка. – Київ: Вища школа, 1995. – 191 с. – робота №40, 41

**До заняття:** Ознайомитися із завданнями Письмово дати визначення поняттям:

Етіоловані рослини – \_\_\_\_\_

Спектральний склад світла – \_\_\_\_\_

Фотоліз води – \_\_\_\_\_

### Завдання 1. Виявлення фотосинтезу методом крохмальної проби.

**Пояснення:** Кінцевий результат фотосинтезу - відновлення вуглецю до органічної речовини. Простим методом виявлення фотосинтезу є крохмальна проба.

**Об'єкт:** пеларгонія садова (*Pelargonium hortorum*), яка була в темряві 2-3 доби.

**Матеріали та обладнання:** пробірки, ножиці, сірники, спиртівка, кристалізатор, водяна баня, скло, чорний папір, срепки, чашка Петрі, скляний ковпак, колби на 100 мл, етиловий спирт, розчин  $\text{HCl}$ , крейда, вазелін, зажими.

#### Хід роботи:

Простим методом виявлення наслідків фотосинтезу є крохмальна проба (дослід відомий також як отримання фігур Ю.Сакса). Для цього спочатку рослину витримують 2 – 3 доби в темряві. Крохмаль у листку перетворюється у цукор, який частково витрачається при диханні, а частково переходить в стебло. Щоб переконатися, що листки обезкрохмалились, знімають листову пластинку і кип'ятять в пробірці з водою, щоб убити клітини. Потім воду зливають і кип'ятять в етиловому спирті на водяній бані до повного виходу пігментів з листка. Спирт зливають і листок знову кип'ятять у воді, воду зливають, а листок кладуть у чашку Петрі, розправляють і заливають його розбавленим розчином  $\text{I}$  в  $\text{KI}$ . Листок залишається жовтим, тому що в ньому немає крохмалю.

Зрізують два листка, черешки підрізають під водою та ставлять у колбу з водою. Частину листових пластинок закривають знизу і зверху чорним папером за допомогою скріпок. Під перший ковпак поряд з листками ставлять порцелянову чашку з грудками крейди, які заливають 30% розчином  $\text{HCl}$ . Це приводить до збільшення кількості  $\text{CO}_2$ . Під другий ковпак поряд з листками ставлять чашку з  $\text{NaOH}$ , який вбирає  $\text{CO}_2$ . Скло, на якому ставлять ковпак змазують вазеліном (рис. 25).

Через 2 – 3 дні дослідні листки обробляють так, як і ті, що брали на обезкрохмалення. Відзначають появу синього чи малиново-фіолетового забарвлення в окремих частинах листків.

Дослід замалювати (результати обробки різних листків  $\text{I}$  в  $\text{KI}$ ), малюнки підписати.



Рис. 25 Класичний дослід по одержанню фігур Ю.Сакса

### Рис. 26. Крохмальна проба

Зробити висновок про те, в якому випадку в листках утворюється крохмаль.

Висновки:

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### Завдання 2. Вплив зовнішніх умов на інтенсивність фотосинтезу.

**Пояснення:** В процесі фотосинтезу в якості побічного продукту виділяється кисень. Швидкість виділення пухирців кисню з міжклітинників листка напряму залежить від інтенсивності фотосинтезу. Наочно цей процес можна спостерігати на вищих водних рослинах.

**Об'єкт:** жива елодея канадська (*Eloдея canadensis*) (дикорослі рослини або акваріумна форма).

**Матеріали та обладнання:** джерело світла (лампа денного освітлення), пробірки, вода, ножиці або лезо, пінцети, скляні палички (для роботи з елодеєю), шпатель або скляна лопатка для роботи з сипучими інгредієнтами, питна сода (суха), склянки з водою (3 шт.), концентрованим розчином  $\text{CuSO}_4$  (3 шт), концентрованим розчином  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  (3 шт.), лінійка, секундоміри.

#### Хід роботи:

Гілочки елодеї підрізають під водою і вміщують за допомогою пінцета та скляних паличок в пробірки з водою зрізом догори так, щоб зріз знаходився під водою на певній відстані від поверхні. У воду попередньо додають трохи питної соди, для підвищення вмісту  $\text{CO}_2$ . Коли почнуть виділятися пухирці кисню, пробірки вміщують в штативи навпроти світла різного кольору: білого, синього, червоного.

**Яскраве кольорове світло сильно подразнює очі, тому спостерігачі повинні розміщатися так, щоб бачити об'єкти, але світло не повинно світити їм в обличчя.**

Склянки розміщують на різній відстані від джерела світла (10 см, 20 см, 50 см). Підраховують кількість виділених пухирців кисню за 5 хв в різних умовах, вираховують середню кількість пухирців на хвилину.



## КОЛОКВІУМ «ФОТОСИНТЕЗ»

Теоретичні питання, винесені на співбесіду:

1. Поняття про фотосинтез, хемосинтез і фоторедукцію.
2. Масштаби процесу фотосинтезу в природі, його космічна та планетотвірна роль.
3. Історія відкриття фотосинтезу
4. Значення робіт М.С. Цвета, К.А. Тімірязєва, М. Ненцького, Л. Махлевського, Р. Вільштеттера, Т.М. Гроднєва, Г. Фішера, Р. Вудворта, М. Штреля з дослідження фотосинтезу.
5. Будова листка як органу фотосинтезу.
6. Роль хлоропластів в процесі фотосинтезу. Хімічний склад хлоропластів, їх структура та ультраструктура. Гіпотеза про походження хлоропластів.
7. Хлорофіл: будова, хімічний склад, умови утворення хлорофілу. Фізичні та хімічні властивості хлорофілу.
8. Каротиноїди, фікобіліни, їх фізичні, хімічні, оптичні властивості, будова, фізіологічна роль в рослині. Непластидні пігменти.
9. Вплив зовнішніх умов на утворення хлорофілу та жовтих пігментів.
10. Фотофізичний етап процесу фотосинтезу. Поняття про пігментні системи та реакційні центри.
11. Фотохімічний етап фотосинтезу. Роботи Д. Арнона. Фотофосфорилування.
12. Темнова фаза фотосинтезу. Дослідження М. Кальвіна. Цикл Кальвіна.
13. Поняття про фотодихання
14. С-4 шлях фотосинтезу. Праці М.Д. Хетча, С.Р. Слека, Ю.С. Карпілова з цього питання. Цикл Хетча-Слека.
15. Порівняння процесу фотосинтезу рослин, що йде по шляху С3 та по шляху С4.
16. Методи обліку фотосинтезу. Одиниці вимірювання.
17. Залежність процесу фотосинтезу від інтенсивності світла, концентрації вуглекислого газу та мінерального живлення.
18. Залежність процесу фотосинтезу від температури, водного режиму, забруднення атмосфери шкідливими газами.
19. Зв'язок мінерального живлення і фотосинтезу
20. Рух органічних речовин по рослині. Внутрішньоклітинний, міжклітинний та дальній флоемний транспорт пластичних речовин.
21. Екологія фотосинтезу.

Перелік основної літератури для самопідготовки:

1. Мусієнко М.М. Фізіологія рослин. – К.: Фітосоціоцентр, 2001. – 392 с.
2. Брайон О.В, та ін. Фізіологія рослин. Практикум. К.: Вища школа, 1995.
3. Иванов В.П. и др.. Практикум по физиологии растений. – М.: АКАДЕМ, 2001.
4. Куперман Ф.М. Морфофизиология растений. – М.: Высшая школа, 1997. – 287 с.
5. Полевой В.В., Саламатова Т.С. Физиология роста и развития растений. – Л.: Изда тельство ЛГУ, 1991. – 238 с.
6. Полевой В.В. Физиология растений. – М.: Высшая школа, 1989. – 464 с.
7. Якушкина Н.И. Физиология растений. – М.: Просвещение, 1993. – 351 с.

## ТЕМА «РІСТ І РОЗВИТОК РОСЛИН»

### Робота №17. Ріст кореня і стебла.

**Мета:** Набути навички визначення зони росту пагона і кореня.

**Завдання:**

- 1) оволодіти навичками закладки фітофізіологічних дослідів у вологих камерах;
- 2) сформулювати уявлення про лінійні графіки як метод відображення розвитку ростових процесів в коренях і пагонах рослин;

**Література:** Фізіологія рослин. Практикум /за ред. проф. М.М. Мусієнка. – Київ: Вища школа, 1995. – 191 с. – робота № 80

**До заняття:** Ознайомитися із завданнями Письмово дати визначення поняттям:

Ріст рослин – \_\_\_\_\_

Розвиток рослин – \_\_\_\_\_

Осьові органи рослин – \_\_\_\_\_

Апікальна меристема – \_\_\_\_\_

Епикотиль – \_\_\_\_\_

Гіпокотиль – \_\_\_\_\_

Апікальна меристема – \_\_\_\_\_

Інтеркалярна меристема – \_\_\_\_\_

### **Завдання 1. Визначення зон росту кореня методом нанесення позначок.**

**Пояснення:** Процеси росту кореня проходять через поділ, розтягіння і диференціацію клітин. Новоутворення відбувається завдяки діяльності апікальної меристеми на кінчику кореня, цей процес проходить дуже швидко. Зони кореня можна визначити як анатомо-морфологічним шляхом, розглядаючи ряд зрізів через кінчик кореня, так і за заміною розмірів окремих частин.

**Об'єкт:** проросле насіння гороху (*Pisum sativum*) на першій стадії проростання (можна використовувати також насіння бобів, квасолі або кукурудзи).

**Матеріали та обладнання:** матеріальні банки або циліндри для вологих камер (з темного скла), тонкі пробкові або пластмасові кришки, набір швацьких булавок, міліметровий папір для виміру довжини кореня, фільтрувальний папір, ножиці, папір для етикеток, клей або липка стрічка, туш (розтертий сухий порошок туші з 5%-ним розчином альбуміну), вода, тонкі загострені дерев'яні палички або загострені сірники (для нанесення туші на корінь), набір збільшувальних скелець або стаціонарні бінокулярні мікроскопи.

### **Хід роботи**

На корінці проростків тушшю (за допомогою загострених дерев'яних паличок) наносять позначки-риски через кожний міліметр, починаючи від кінчика кореня. Процедуру краще проводити під збільшувальним склом або бінокулярном, риси наносити акуратно, намагаючись не пошкодити покривні тканини корінця.

На дно матеріальної банки з темного скла наливають води приблизно на 2 см. Пробкові кришки наскрізь протикають швацькими булавками (голівками - назовні). Насіння разом з вузькою смужкою фільтрувального паперу наколюють на гострячок булавки, щоб проросток знаходився під кришкою, а корінець торкався паперу. Закривають банку так, щоб фільтрувальний папір занурився у воду. Залишають дослід у темній шафі або термостаті при







**Рис. 28. Графік кривої росту стебла.**

На основі отриманих даних роблять висновок, де на тілі досліджених проростків знаходиться зона росту.

Висновки:

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

**Завдання 3. Визначити періодичність росту пагонів дерев та кущів.**

*Пояснення:* Ріст пагону проходить нерівномірно, спочатку йде повільний ріст, потім він збільшується, досягає максимального і знову уповільнюється. Таким чином спостерігається періодичність росту пагонів, яка характеризується законом великого періоду росту.

*Об'єкти:* кількарічні пагони бузку звичайного (*Syringa vulgaris*), спіреї ВанГутта (*Spiraea xvanhouttei*), липи серцелистої (*Tilia cordata*), клена ясенелистого (*Acer negundo*), ясеня звичайного (*Fraxinus excelsior*), гіркокаштана звичайного (*Aesculus hippocastanum*) тощо.

*Матеріали та обладнання:* лінійки з міліметровими позначками.

**Хід роботи:**

На багаторічних пагонах дерев або кущів знаходять ділянку віком 1 рік (за бруньковими рубцями). Починаючи від основи річного пагону, лінійкою вимірюють довжину міжвузлів. Данні записують в таблицю.



Об'єкт	Показники	Номера міжвузлів від основи пагону														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
	Довжина міжвузлів, см															
	Довжина пагону, см															
	Довжина міжвузлів, см															
	Довжина пагону, см															
	Довжина міжвузлів, см															
	Довжина пагону, см															
	Довжина міжвузлів, см															
	Довжина пагону, см															
	Довжина міжвузлів, см															
	Довжина пагону, см															

За даними таблиці побудувати криву росту міжвузлів та росту пагону, характерну для різних рослин.

**Рис. 29. Криві росту річних пагонів дерев і кущів.**

На основі отриманих графіків описати, як протягом вегетаційного періоду змінювалась інтенсивність та швидкість росту річних пагонів піддослідних рослин.



## Робота №18. Дія фітогормонів на утворення і ріст коренів рослин

*Мета:* виявити вплив фізіологічно активних речовин на ріст окремих органів рослин.

*Завдання:*

- 1) сформувані уявлення про механізм впливу гетероауксину на вкорінення трав'янистих живців однорічних рослин;
- 2) проспостерігати за впливом різних концентрацій гетероауксину на ступінь розвитку кореневої системи

*Література:* Фізіологія рослин. Практикум /за ред. проф. М.М. Мусієнка. – Київ: Вища школа, 1995. – 191 с. – робота № 82, 83, 97

*До заняття:* Ознайомитися із завданнями Письмово дати визначення поняттям:

Вегетативне розмноження – \_\_\_\_\_ - \_\_\_\_\_ - \_\_\_\_\_

Гетероауксин – \_\_\_\_\_

Апікальне домінування – \_\_\_\_\_

Придаткові корені – \_\_\_\_\_

### **Завдання 1. Укорінення живців квасолі, оброблених гетероауксином.**

*Пояснення:* Гетероауксин є фізіологічно активною речовиною (ФАР) з групи ауксинів і за хімічною природою являє собою ( $\beta$  - індолілоцтову кислоту (ЮК)). Обробка рослин гетероауксином активізує процеси коренеутворення; прискорює пробудження сплячих бруньок, насіння. Він використовується у сільському господарстві для розмноження рослин живцями.

*Об'єкт:* 10-тиденні проростки квасолі у кристалізаторі з тирсою.

*Матеріали та обладнання:* лезо бритви, препарувальне скло, 3 хімічні склянки на 100 мл або 3 колби на 100 мл, лінійки чи міліметровий папір, 0,01% розчин гетероауксину.

#### **Хід роботи:**

Беруть 10-денні паростки квасолі довжиною 10-13 см, зрізують біля основи 10 однакових за довжиною, паростки підрізають під водою, 5 паростків (контрольні) занурюють у колбочку з водою, а 5 інших (дослідні) - у колбочку з 0,01% розчином гетероауксину на 3 години.

Через відмірений проміжок часу (не пізніше!) виймають паростки з розчину, ополіскують водою і занурюють у воду на глибину 4-5 см та залишають на світлі при температурі 20-25°C до утворення корінців (у апараті «ФЛОРА-1» чи «ФЛОРА -2»). В кінці досліду (приблизно через тиждень) підрахувати кількість утворених корінців, їх довжину.

Дані записати в таблицю.

Варіанти	№ піддослідної рослини	Кількість корінців, що утворилися			Довжина корінців, см	
		Всього	На 1 рослині (середнє арифм.)	Всього	На 1 рослині (середнє арифм.)	% до контролю
Водопровідна вода (контр.)	1					
	2					
	3					
	4					
	5					
0,01% розчин гетероауксину	1					
	2					
	3					
	4					
	5					

Зробити висновок, як розчини гетероауксину різної концентрації вплинули на утворення коренів.

Висновки:

---

---

---

---

---

## Завдання 2. Вивчення дії фітогормонів на ріст коренів рослин.

*Пояснення:* Найяскравішим проявом фізіологічної дії ауксинів є їхній вплив на ріст клітин в фазі розтягнення. Вони, подібно до інших фітогормонів, зумовлюють корелятивний ріст рослин. Основний представник групи **ауксинів**.  $\beta$  - індолілоцтова кислота (ІОК) з імперичною формулою  $C_{10}H_9O_2N$ , яка має назву гетероауксин.

Дія ІОК залежить від її концентрації. Висока концентрація зумовлює гальмування росту. При цьому для різних рослин і різних органів тієї самої рослини концентрація ІОК різко відрізняється.

*Об'єкт:* сухе простерилізоване насіння пшениці.

*Матеріали та обладнання:* 6 простерилізованих чашок Петрі, закритих з кришками, фільтрувальний папір (з розрахунку на 6 кружечків в чашки Петрі) або стерильний медичний бинт, мірні циліндри місткістю 10 мл або мірні пальчики, скляна паличка для перемішування розчину, ножиці, пінцет, 0,01% розчин гетероауксину (10-15 мл), кип'ячена або дистильована вода (до 1 л).

### Хід роботи:

У 6 чашок Петрі кладуть кружечки фільтрувального паперу. Їх змочують водою чи розчином гетероауксину за наступною схемою:

1. Дистильована вода (контроль)

2. Гетероауксин:

- 0,01 %

- 0,001 %

- 0,0001 %

- 0,00001 %

- 0,000001 %

Лінійку розчинів готують так. У мірну пробірку наливають 10 мл розчину гетероауксину з концентрацією 0,01%. 9 мл виливають чашку Петрі на кружечок фільтрувального паперу або складено у 2 шари стерильною медичною марлею, залишається 1 мл 0,01% розчину. Сюди ж доливають води до об'єму 10 мл, перемішують, одержують розчин 0,001 %. 9 мл виливають у чашку Петрі, 1 мл залишається. Таким чином заповнюють всі чашки. Зверху на вологий папір (фільтрувальний) в чашку пінцетом кладуть по 5 зерен пшениці, закривають чашки Петрі кришками і ставлять в темне місце при температурі 20-25°C. Через тиждень дослід знімають: заміряють довжину корінців кожного проростку в чашках Петрі.

Результати заносять в таблицю.

Об'єкт	Варіант досліду	Сумарна довжина корінців, см	Середня довжина корінців, см (с.арифм.)	% до контролю
	Вода (контроль)			—
	Гетероауксин 0,01 %-ний			
	Гетероауксин 0,001 %			
	Гетероауксин 0,0001 %			
	Гетероауксин 0,00001 %			
	Гетероауксин 0,000001 %			

Зробити висновок, яка концентрація ІОК є оптимальною для закладки та росту додаткових коренів.

Висновки:

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

**Контрольні питання:**

1. Що таке фітогормони?
2. Перерахуйте природні фітогормони-стимулятори, назвіть процеси, які ними регулюються.
3. Перерахуйте природні фітогормони-інгібітори, назвіть процеси, які ними регулюються.
4. В чому полягає механізм дії ІОК на ріст клітин у фазі розтягнення?
5. Чи однаково реагують на одну і ту ж концентрацію ауксину стебла і корені рослин?
6. В якій тканині закладаються бічні корені?
7. Чи може гетероауксин не пришвидшити, а загальмувати ризогенез?

Дата захисту \_\_\_\_\_ Оцінка \_\_\_\_\_ Підпис викладача \_\_\_\_\_

## Робота №19 Рухи рослин.

*Мета:* дослідити рухові процеси в рослинних організмах.

*Завдання:*

- 1) Виявити вплив одностороннього освітлення на ріст осьових органів;
- 2) дослідити залежність росту осьових органів рослин від дії земного тяжіння;
- 3) виявити особливості участі фітогормонів (ауксину) у рухах рослин

*Література:*

Фізіологія рослин: Практикум /за ред.проф. М.М. Мусієнка. – К.: Вища школа, 1995. – 191 с. робота №95, С. 158-161.

*До заняття:* Ознайомитися із завданнями Письмово дати визначення поняттям:

Таксиси – \_\_\_\_\_

Настії – \_\_\_\_\_

Фототропізм – \_\_\_\_\_

Геотропізм – \_\_\_\_\_

Кореневий чохлик – \_\_\_\_\_

Колеоптиль – \_\_\_\_\_

### **Завдання 1. Спостереження за фототропічною реакцією вищих рослин.**

*Пояснення:* Фототропізм – ріст стебла рослин в напрямку одностороннього освітлення внаслідок нерівномірного росту світлової та темної сторони. Це пов'язано з неоднаковим балансом фітогормонів на освітленому та затіненому боці стебла.

*Об'єкт:* молоді проростки злаків (або інших рослин)

*Матеріали та обладнання:* станіоль для ковпачків, фототропічна камера (переобладнана Флора-1), ємкість для проростків (ванночка або чашка Петрі з тирсою), тонкі дерев'яні палички для формування станіолевих ковпачків.

#### **Хід роботи:**

На частину пророслих проростків, які ще не прорвали колеоптиль (4-5 см завдовжки) надівають станіолеві ковпачки 1 см завдовжки. Виготовляють їх так: невеликий шматочок станіолю закручують навколо сірника або тонкої палички, верх – скручують.

Кристалізатор (або чашку Петрі) з проростками, вкритими станіолевими ковпачками та без ковпачків ставлять у фото тропічну камеру – апарат Флора-2 з темними внутрішніми стінками, плексигласова кришка якої повністю закрита темним папером, за виключенням отвору посередині. Проростки таким чином розташовують, щоб світло падало на їх верхівки.

Через 24 години перевіряють, в якому стані знаходяться проростки, які росли під ковпачками, а які – без. Звертають увагу на їх розташування в просторі та напрямок росту: тягнуться вгору, від світла, в напрямку світла тощо.

Проростки замальовують (позначити на малюнку напрямок падіння світла)..

1

2

**Рис. 30. Проростки в фототропічній камері: 1 – під станіолевими ковпачками, 2 – без ковпачків.**

Роблять висновок про вплив світла на напрямок росту та ділянку проростків злаків, якою вони сприймають світло

Висновки:

---

---

---

---

---

---

---

---

### Завдання 2. Спостереження за геотропічною реакцією проростків.

**Пояснення:** Корені рослин характеризуються позитивним геотропізмом, тобто ростом в напрямку дії сили тяжіння, а стебла – негативним. Сила тяжіння впливає на рослини, діючи на кореневий чохлак. При горизонтальному положенні проростка корінь загинається вниз, стебло – вгору. Це відбувається у зв'язку з різним гормональним статусом верхнього і нижнього боку проростка, який розміщений горизонтально.

**Об'єкт:** проростки гороху (*Pisum sativum*), кукурудзи (*Zea mays*), квасолі (*Phaseolus vulgaris*) або інших культурних рослин.

**Матеріали та обладнання:** скляні банки з білого прозорого скла, скло для їх закривання, скляні пластинки, на які закріплюються проростки (мають бути таких розмірів, щоб без перешкод вміщатися в банки), фільтрувальний папір, нитки.

#### Хід роботи:

Для демонстрації явища геотропізму використовують проростки гороху або квасолі. Проростки з добре сформованим корінцем і пагоном прикріплюють нитками до скляної пластинки, яку попередньо обгортають з усіх боків фільтрувальним папером. Кріпити проростки слід так, щоб корінці торкались кінчиками паперу.

На дно банки наливають трохи води, ставлять пластинку з прикріпленим проростком в нормальному стані і залишають на 1-2 дні. Відзначають, в якому напрямку росте корінь, в якому – пагін.

Через 1-2 дні банку відкривають, пластинку з проростком перевертають на 180°, закривають склом і залишають на кілька днів (не більше ніж на 7 днів, оскільки проросток може загинути від нестачі кисню).

Завершують дослід, відмічаючи, в якому напрямку росте корінь, в якому – пагін проростка. Дослід замальовують (на початку і його завершення).

1

2

**Рис. 31. Дослідження геотропічної реакції органів проростка:** 1 – на початку досліду, 2 – по завершенні досліду.

Роблять висновок про знак геотропізму у різних органів проростка.





---

---

---

---

---

**Контрольні питання:**

1. Дайте класифікацію рухів рослин.
2. Що таке тропізми? Яке значення тропізми мають в житті рослин?
3. Яким є механізм фото тропічного руху? Яке значення він має для рослин?
4. Яким місцем сприймають світло проростки злаків?
5. Наведіть приклади відомих вам рослин з сильною фото тропічною реакцією.
6. Яку роль в процесі фототропізму відіграють гормони, і які саме?
7. Як відрізняється електричний заряд на освітленій і затемненій частинах стебла дорослої рослини?
8. Як продемонструвати наявність геотропічних згинів в корені та стеблі?
9. Якою є причина різної реакції кореня і стебла на вплив земного тяжіння?
10. Чи спостерігається геотропізм у багаторічних рослин?
11. Як можна дослідним шляхом показати значення кореневого чохла для геотропічної реакції?

Дата захисту \_\_\_\_\_ Оцінка \_\_\_\_\_ Підпис викладача \_\_\_\_\_

## ТЕМА «СТІЙКІСТЬ РОСЛИН»

### Робота №20. Холодостійкість рослин.

*Мета:* ознайомитися з фізіологічними основами холодостійкості рослин.

*Завдання:*

- 1) дослідити вплив цукру на стійкість рослин до низьких негативних температур.
- 2) Оволодіти навичками визначення властивостей рослин шляхом послідовного проморожування та розморожування.
- 3) Провести спостереження впливу низькомолекулярних вуглеводів на стабілізацію біоколоїдів.

*Література:* Фізіологія рослин. Практикум /за ред. проф. М.М. Мусієнка. – Київ: Вища школа, 1995. – 191 с. – робота № 74, 75

*До заняття:* Ознайомитися із завданнями Письмово дати визначення поняттям:

Холодостійкість – \_\_\_\_\_ -- \_\_\_\_\_

Морозостійкість – \_\_\_\_\_

Кріопротектори – \_\_\_\_\_

#### *Завдання. 1. Захисна дія цукру на цитоплазму при низьких температурах.*

*Пояснення:* Основна згубна дія низьких негативних температур на рослинний організм пов'язана з утворенням льоду – як в середині клітини, так і в міжклітинниках. У цьому випадку руйнується структура цитоплазми і клітина гине. Основне значення в розвитку стійкості рослин до морозу має накопичення сахарози та інших олігосахаридів під час проходження рослиною першої стадії загартування. В наслідок накопичення цукрів в клітинах підвищується осмотичний тиск, знижується точка замерзання розчинів, захищається велика кількість води від замерзання і цим самим зменшується кількість утворення кристалів льоду.

*Об'єкт:* коренеплід буряку столового (*Beta vulgaris*).

*Матеріали та обладнання:* мікроскоп, предметні і покривні скельця, бритви, скальпелі, термометр, кристалізатори, шпателі, пробірки, піпетки, місткістю 5 і 10 мл, воскові олівці, лід, кухонна сіль, 1 М розчин сахарози, 8% розчин NaCl.

#### **Хід роботи:**

З коренеплоду столового буряку роблять зрізи у формі брусків довжиною 20 мм, завширшки 5 мм, товщиною 2-3 мм. Зрізи промивають у проточній воді та по 2 кидають у 3 пробірки. У першу пробірку наливають 5 мл води, у другу – 5 мл розчину сахарози 0,5 М, у третю – 5 мл розчину сахарози 1 М.

Витримують пробірки за кімнатної температури 5 хв.

Далі пробірки ставлять у охолоджувальну суміш льоду або снігу з сіллю у відношенні 3:1 на 20 хв, для заморожування. Потім пробірки виймають і ставлять у стакан для розморожування. Дивляться, де вода більше зафарбувалася у рожевий колір. Потім роблять тонкі зрізи і розглядають їх під мікроскопом, визначають, де живі, а де мертві клітини. Якщо клітини зафарбовані - вони живі, і навпаки.

Одночасно готують тимчасові мікропрепарати з кожного з брусків (з центральної частини, не5 пошкодженої при розрізанні), замість дистильованої води додають 8% розчин NaCl. Препарати розглядають під мікроскопом і виявляють середню кількість плазмолізованих клітин в полі зору мікроскопу (у % до загальної кількості зафарбованих, а значить, живих клітин в полі зору).





## Робота №21: Жаростійкість рослин.

*Мета:* Визначити ступінь пошкодження клітин рослин різними температурами.

*Література:* Фізіологія рослин. Практикум /за ред. проф. М.М. Мусієнка. – Київ: Вища школа, 1995. – 191 с. – робота № 69, 71

*До заняття:* Ознайомитися із завданнями Письмово дати визначення поняттям:

Жаростійкість – \_\_\_\_\_ -- \_\_\_\_\_

Посухостійкість – \_\_\_\_\_

Феофітинізація – \_\_\_\_\_

Коагуляція – \_\_\_\_\_

### Завдання 1. Визначення жаростійкості рослинного організму.

*Пояснення:* Високі температури негативно впливають на рослинні клітини. Вони пригнічують рух цитоплазми, змінюють структуру білків, пошкоджують мембрани тилакоїдів в хлоропластах, погіршують напівпроникність тонопласту. В результаті останнього в цитоплазму з вакуолі потрапляють органічні кислоти. При проникненні їх у пластиди відбувається реакція заміщення йону магнію у хлорофілі на два протони водню, і хлорофіл перетворюється на феофітин. На листках рослин з'являються помітні бурі плями. Подібного ж ефекту можна досягти, якщо подіяти на рослини високими температурами та обробити їх слабким розчином соляної кислоти.

*Об'єкт:* листки різних видів рослин – кімнатних та дикоростучих (по 4 шт.)

*Матеріали та обладнання:* водяна баня з термометром, чашки Петрі (по 3 шт. на кожний рослинний об'єкт), розчин 0, 2 н соляної кислоти, вода кімнатної температури, пінцети, паперові етикетки, секундомір.

#### Хід роботи:

Нагріти водяну баню до 40° С. Занурити всі приготовлені листки на 15 хвилин.

Дістати з кожного виду рослин по 1 листку, розкласти їх по чашках Петрі з прикріпленими етикетками з позначками температури, і залити водою для охолодження.

Підняти у водяній бані температуру на 15° С. Через 10 хвилин знову вийняти по 1-му листку кожного виду і занурити у чашки Петрі з холодною водою. Повторити процедуру двічі, довівши температуру у водяній бані до 85-90° С (не до кипіння!).

Після того, як всі зразки охолонуть, з чашок Петрі зливають воду і заливають листки 0, 2 н розчином соляної кислоти. Через 15-20 хвилин кислоту зливають і розглядають листки, відзначають ступінь пошкодження, рахують кількість бурих плям, що з'явилися, відзначають їх специфіку. Результати оформлюють в таблицю, використовуючи наступні позначки:

– побуріння відсутнє;

+ слабке побуріння, окремі дрібні бурі плямки;

++ побуріло близько 50% листової поверхні;

+++ суцільне побуріння листової поверхні.

Вид рослини	Ступінь побуріння (пошкодження) при різних температурах			

На основі отриманих даних зробити висновок про жаростійкість досліджених об'єктів.

Висновки:

## Завдання 2. Визначення температурного порогу коагуляції цитоплазми (за Генкелем).

*Пояснення:* Температуру, при якій протягом 10 хв коагулюють всі білки цитоплазми, і клітина вмирає, вважають умовною межею жаростійкості рослин. Клітини вважають мертвими, якщо вони втратили здатність до плазмолізу.

*Об'єкт:* листки різних видів рослин – кімнатних та дикоростучих.

*Матеріали та обладнання:* 0,02%-ний розчин барвника нейтрального червоного, 1М розчин сахарози в крапельницях (склянках з піпеткою), великі хімічні стакани, набір маленьких пробірок, скляні палички або пінцети, термометри для вимірювання температури води (6 шт), препарувальні голки, мікроскопи, предметні і покривні скельця, фільтрувальний папір, електрочайник.

### Хід роботи:

Готують 12 зрізів епідермісу листка піддослідної рослини. Пінцетом вміщують зрізи в пробірки з водопровідною водою.

Кип'ятять воду в електрочайнику. Змішуючи гарячу і холодну воду, готують у хімічних стаканах «водяні бані» (великі хімічні стакани) з температурами 48, 50, 52, 54, 56 та 58 °С (стакани заздалегідь підписати або наклеїти на них етикетки з позначками). Занурюють одночасно у водяні бані пробірки зі зрізами епідермісів (різних рослинних об'єктів) і протягом 10 хвилин підтримують в них необхідний рівень температури, обережно доливаючи гарячу (або при необхідності - холодну) воду.

Через 10 хвилин зрізи переносять на предметні скельця, додають кілька краплин розчину нейтрального червоного, витримують 5 хвилин. Відтягують барвник фільтрувальним папером. Потім на зрізи епідерми наносять по 1-2 краплини 1М розчину сахарози, накривають покривним склом, витримують 15-20 хвилин і розглядають під мікроскопом.

Результати досліду (наявність плазмолізу, відсутність плазмолізу) заносять у таблицю, позначаючи: знаком «+» – наявність у більшості клітин зрізу явища плазмолізу, знаком «-» - відсутність плазмолізу у більшості клітин.

Завдання виконуються робочими групами, що працюють з різними об'єктами, в загальну таблицю вносять дані, отримані всіма студентами.

Рослина	Плазмоліз при температурі, °С					
	48°С	50°С	52°С	54°С	56°С	58°С

Роблять висновок про рівень жаростійкості піддослідних рослин.



## КОЛОКВІУМ «РІСТ І РОЗВИТОК РОСЛИН»

Теоретичні питання, винесені на співбесіду:

1. Поняття про ріст рослин.
2. Фази росту клітин. Типи росту.
3. Одиниці виміру процесу росту. Велика крива росту рослини.
4. Вплив зовнішніх умов та внутрішніх факторів на ріст рослини.
5. Класифікація фізіологічно активних речовин.
6. Фітогормони. Ауксини, гетероауксини, гіберіллини: визначення, роль в житті рослини, де, як і коли утворюються в рослинному організмі .
7. Фітогормони. Цитокиніни, абсцизини, етилен: визначення, роль в житті рослини, де, як і коли утворюються в рослинному організмі .
8. Синтетичні регулятори росту. Гербіциди, дефоліанти, десіканти, ретарданти. Їх вплив на рослинний організм.
9. Подразливість рослин. Біоелектричний потенціал.
10. Рухи рослин. Класифікація рухів рослин: внутрішньоклітинні рухи, таксиси, ростові рухи, тургорні рухи тощо.
11. Фізіологічна природа ростових рухів. Гіпотеза Холодного-Вента. Статолітна гіпотеза.
12. Циркадні ритми. Ендогенні ритми.
13. Стан спокою рослин: глибокий спокій, вимушений спокій.
14. Фізіологічна природа спокою Фізіолого-біохімічні зміни в клітинах рослин при зануренні в стан спокою.
15. Етапи онтогенезу вищих рослин. Життєвий цикл вищої покритонасінної рослини.
16. Фенофази рослин, етапи морфогенезу і органогенезу.
17. Вплив зовнішніх умов на процеси розвитку рослин. Фотоперіодизм. Роль фітохрому в сприйнятті фотоперіодичної реакції.

## КОЛОКВІУМ «СТІЙКІСТЬ РОСЛИН»

Теоретичні питання, винесені на співбесіду:

1. Стійкість рослин як адаптивне пристосування до конкретних умов існування.
2. Холодостійкість. Причини загибелі теплолюбних рослин при низьких температурах. Штучне підвищення холодостійкості рослин.
3. Морозостійкість та зимостійкість. Причини загибелі рослин в холоду пору року. Методи загартування рослин.
4. Жаростійкість. Причини загибелі рослин під дією високих температур довкілля. Механізми боротьби рослин з перегрівом. Термоморфи.
5. Посухостійкість. Причини загибелі рослин при втраті вологи. Механізми протидії рослин зневодненню. Фізіологія посухостійких рослин.
6. Газостійкість рослин. Методи підвищення газостійкості рослин.
7. Солестійкість рослин, її фізіологічні основи. Стійкість рослин до забруднення важкими металами.
8. Радіаційний стрес рослини. Механізми захисту організму рослин від дії проникаючої радіації.
9. Основи стійкості рослин до хвороб.
10. Протидія рослинного організму шкідникам. Фітонциди. Біологічно активні речовини.

Перелік основної літератури для самопідготовки:

1. Мусієнко М.М. Фізіологія рослин. – К.: Фітосоціоцентр, 2001. – 392 с.
2. Иванов В.П. и др.. Практикум по физиологии растений. – М.: АКАДЕМ, 2001.
3. Полевой В.В., Саламатова Т.С. Физиология роста и развития растений. – Л.: Изда тельство ЛГУ, 1991. – 238 с.



ДЛЯ ПОДАТК

**Методичне видання**

*Н. В. Загороднюк  
Р. П. Мельник*

## **ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН**

**ISBN 978-617-7783-19-9**

Підписано до друку 13.09.2019 р. Формат 60×84/8.  
Папір офсетний. Наклад 300 прим.  
Гарнітура Times New Roman. Друк різнографія.  
Ум. друк. арк. 14,49. Обл.-вид. арк. 13,48.  
Замовлення № 1259.

Книжкове видавництво ФОП Вишемирський В. С.  
Свідоцтво про внесення до Державного реєстру  
суб'єктів видавничої справи: серія ХС № 48 від 14.04.2005 р.  
видано Управлінням у справах преси та інформації.  
Адреса: 73000, Україна, м. Херсон, вул. Соборна, 2,  
тел. (050) 133–10–13, e-mail: printvvs@gmail.com