

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ЦЕНТР «МАЛА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ»

Бобошко О. П.
Антоненко С. В.



ФІЗИОЛОГІЯ РОСЛИН

Методичні рекомендації
та лабораторний
практикум



Київ – 2019

БІБЛІОТЕКА

МАН

Міністерство освіти і науки України
Національна академія наук України
Національний центр «Мала академія наук України»

Бобошко О. П., Антоненко С. В.

ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН

*Методичні рекомендації
та лабораторний практикум*

Київ 2019

УДК 576.32/36 + 576.08

Методичні рекомендації та лабораторний практикум «Фізіологія рослин» /
Автори-укладачі: Бобошко О. П., Антоненко С. В. – Київ, 2019. – 56 с.

Посібник містить теоретичний та практичний матеріал з курсу «Фізіологія рослин». Складається з 7 розділів. Лабораторний практикум розрахований на учнів хіміко-біологічної школи Малої академії наук України.

© Бобошко О. П., Антоненко С. В., 2019

© Національний центр «Мала академія наук України», 2019

ЗМІСТ

Передмова.....	4
РОЗДІЛ 1. Фізіологія рослинної клітини.....	5
РОЗДІЛ 2. Фотосинтез.....	11
РОЗДІЛ 3. Дихання рослин.....	16
РОЗДІЛ 4. Кореневе живлення рослин.....	23
РОЗДІЛ 5. Стійкість рослин.....	33
РОЗДІЛ 6. Ріст і розвиток рослин.....	39
РОЗДІЛ 7. Алелопатія рослин.....	44
Література.....	56

Передмова

Фізіологія рослин – наука про функціональну активність рослинних організмів і механізми процесів рослинних систем різних рівнів їх організації – від субклітинних структур до цілісних рослин. Фізіологія рослин досліджує структуру і функції рослинного організму, механізми мінерального живлення, фотосинтезу, транспорту речовин, дихання, системи регуляції й інтеграції окремих елементарних реакцій до рівнів фізіологічної функції, водний режим, механізми росту, розвитку та їх регуляції, вплив факторів середовища та природу стійкості рослин до несприятливих умов довкілля. Основне завдання фізіології рослин полягає в одержанні й узагальненні нових знань про фізіологічні процеси в рослинному організмі та можливості управління продукційним процесом рослинних угруповань з метою створення теоретичної бази раціонального використання й захисту рослинного світу.

Основною метою даного практикуму є допомогти пізнати закономірності життєвих функцій рослин, розкриття їх механізмів, формування уявлення про структурно-функціональну організацію рослинних систем різних рівнів та вироблення шляхів керування рослинним організмом.

Практикум складається з 7 розділів: фізіологія рослинної клітини, фотосинтез, дихання, кореневе живлення, стійкість рослин до несприятливих факторів середовища, ріст і розвиток рослин.

РОЗДІЛ 1.

Фізіологія рослинної клітини



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

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

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

потенціалів води в клітині та навколишньому середовищі. Хімічний потенціал чистої води завжди більший за її хімічний потенціал в розчині (клітині). Чим вища концентрація сполук усередині 12 13 клітини, тим менший хімічний потенціал внутрішньоклітинної води і тим швидше вода надходить в клітину. Осмотичний рух води в клітину відбувається пасивно, без енергетичних затрат. Мінеральні ж елементи здебільшого надходять крізь клітинні мембрани проти електрохімічного градієнта активно, за допомогою специфічних білків-переносників і з затратою енергії АТФ. Завдяки добре розвиненій системі внутрішніх мембран і плазмалеми в клітинах підтримується відповідний йонний склад вакуолярного розчину і цитоплазми, що визначає статус клітини як колоїдно-осмотичної системи. Мембранний принцип будови протопласта реалізується в різноманітних проявах осмотичних властивостей нативних клітин. Зокрема, на цьому базуються принципи практичних робіт вивчення явищ плазмолізу й деплазмолізу, визначення осмотичного тиску клітинного соку, проникності живих і ушкоджених мембран тощо. Більшість із цих робіт мають діагностичне й прикладне значення, зокрема для первинної оцінки фізіологічного стану рослин в умовах відкритого та закритого ґрунту. Частина робіт присвячено вивченню структурно-функціональних властивостей живого вмісту клітини. Так, встановлення порівняльної здатності до проникності плазмалеми й тонопласту, впливу деяких йонів на в'язкість цитоплазми, тестування ступеня ушкодження тканин за зміною проникності мембран використовують для лабораторно-польових методів діагностики стану рослинних організмів за умов дії на них несприятливих факторів середовища. Досить інформативними й показовими є роботи щодо вивчення процесів і явищ, зумовлених властивостями й результатами сумісної діяльності вакуолей і цитоплазматичного вмісту рослинних клітин. Практичні аспекти цих робіт теж не викликають сумніву. У процесі еволюції у клітинах усіх живих організмів вироблений механізм типового неспецифічного реагування – загальна неспецифічна реакція на ушкоджуючу дію, проявом якої є однотипні зміни: зменшення дисперсності колоїдів цитоплазми, збільшення спорідненості цитоплазми і ядра до низки барвників, зміна клітинної проникності,

підвищення кислотності цитоплазми, зміна здатності до гранулоутворення. Згідно денатураційної теорії всі ці прояви неспецифічної реакції зумовлені зворотною денатурацією протеїнів, які є складовою протоплазми клітин.

Сьогодні більшість положень денатураційної теорії уточнені та конкретизовані з позицій сучасних досягнень біології. З'ясовано, що неспецифічна відповідь клітин на пошкоджуючий агент зумовлена загальними для них особливостями структурно-функціональної організації. По-перше, нерівномірність просторового розподілу низькомолекулярних органічних сполук: цукрів, амінокислот, нуклеотидів, жирних кислот по всій клітині (компарменталізація). По-друге – неспецифічне інгібування біологічної активності макромолекул низькомолекулярними клітинними субстратами. Зсув рівноваги між активним транспортуванням низькомолекулярних сполук та їхньою дифузією, який спричинює декомпарменталізацію клітинних субстратів та інгібування ними метаболізму – основні фактори, які зумовлюють неспецифічну реакцію клітини. У відповідь на дію модельного токсиканту в клітині відбувається комплекс змін, які характеризують її загальну неспецифічну реакцію. Деякі з них можна вимірювати і, завдяки цьому, використовувати як маркери на дію токсичних речовин. Це, насамперед, зміни в'язкості цитоплазми та проникності мембран, зсув йонного балансу, бубнявіння хлоропластів, зменшення дисперсності колоїдів цитоплазми, зміна форми клітини, збільшення спорідненості цитоплазми й ядра клітини до низки барвників, зміна процесу грануловідкладання вітальних барвників і дифузного забарвлення протоплазми. За цими неспецифічними реакціями клітини, що легко реєструються під мікроскопом, можна робити висновок про стан їхньої життєдіяльності та про пошкодження в його початковій оборотній фазі. Вони мають суттєве значення в цитоекологічних дослідженнях. Встановлення характеру цих змін дає змогу зробити відповідні висновки про резистентність клітин, органів або організмів до несприятливих умов довкілля і вести цілеспрямований пошук умов або прийомів, які б сприяли підвищенню стійкості і продуктивності досліджуваних об'єктів.

Робота 1. ВИЗНАЧЕННЯ ОСМОТИЧНОГО ПОТЕНЦІАЛУ КЛІТИННОГО СОКУ ПЛАЗМОЛІТИЧНИМ МЕТОДОМ

Концентрацію клітинного соку, який є розчином різноманітних органічних і неорганічних сполук, можна визначити за його осмотичним потенціалом. Плазмолітичний метод визначення цього важливого цитофізіологічного показника полягає в тому, що зрізи рослинних тканин занурюють у розчини осмолітика різної концентрації і згодом досліджують їх під мікроскопом для визначення концентрації ізотонічного розчину. Оскільки плазмоліз відбувається лише в гіпертонічних розчинах, знаходять таку концентрацію, за якої початкова стадія плазмолізу спостерігається не менше ніж у 50 % клітин досліджуваної тканини. Концентрація ізотонічного розчину обчислюється як середнє арифметичне між концентрацією гіпер- та гіпотонічного розчинів.

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

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

Хід роботи

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

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

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

3. Зрізи пензликом перенести на 1÷2 хв. в охолоджену кип'ячену воду для видалення бульбашок повітря і поступово, з інтервалом 2÷3 хв., занурити

у розчині плазмолітика різної концентрації та експонувати їх протягом 20÷30 хв.

Таблиця 1. Визначення ізотонічної концентрації розчину плазмолітичним методом

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

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

4. Роздивитися зрізи під мікроскопом.

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

5. Послідовно роздивитися препарати з усіх розчинів, встановити, за якої концентрації помітно початкову стадію плазмолізу (гіпертонічний розчин плазмолітика), а за якої – не помітно (гіпотонічний розчин плазмолітика). Результати записати у таблицю 1 значками «+» та «-» .

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

$$P = RTCi,$$

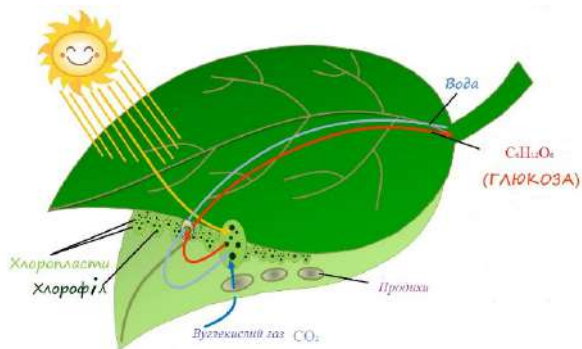
де P – осмотичний тиск, в мегапаскалях, МПа; R – універсальна газова стала, $8,317 \cdot 10^{-3}$ Дж/(кМоль·К); T – абсолютна температура, $273^\circ + t^\circ$ (К); C – концентрація розчину, моль/л; i – ізотонічний коефіцієнт. Для неелектролітів (сахарози) $i = 1$, а для розчинів електролітів (наприклад, NaCl) він має такі значення (табл. 2).

Таблиця 2. Значення ізотонічного коефіцієнта (i) для розчину NaCl

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

7. Зробити висновки.

Висновки



РОЗДІЛ 2.

Фотосинтез

Фотосинтез – унікальний в фізико-хімічному відношенні процес, який збільшує вільну енергію біосфери за рахунок зовнішнього джерела –

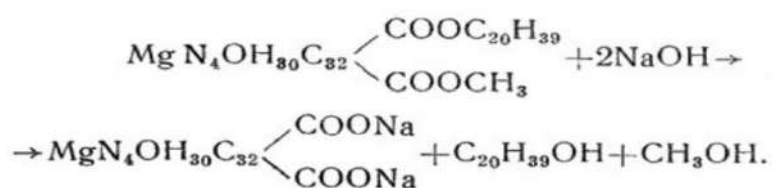
Сонця і забезпечує існування як рослин, так і усіх гетеротрофних організмів, у тому числі й людини. Зараз важко, а то і зовсім неможливо знайти будь-які природні явища, які не поєднані з фотосинтезом. Із накопиченням знань про механізми даного процесу фотосинтез визначають як фототрофну функцію деяких бактерій, водоростей та вищих рослин. Фототрофна функція – це сукупність процесів поглинання, перетворення та використання в багатьох ендергонічних реакціях світлових квантів, у яких відбувається первинне становлення пластичних та енергетичних ресурсів життя на нашій планеті. Особливістю рослинної клітини є наявність у ній хлоропластів, у яких утворюється органічна речовина із CO_2 і H_2O за рахунок енергії Сонця. Фотосинтез – це окисно-відновний процес. За участю хлорофілу й енергії сонячних квантів вода фотоокиснюється, в результаті чого виділяються кисень та водень, останній і відновлює вуглекислий газ до рівня вуглеводів. Ці реакції відбуваються відповідно в світлову та темнову фази фотосинтезу. У тилакоїдах хлоропласта відбуваються світлові реакції фотосинтезу: уловлювання квантів світла пігментами – хлорофілом, каротиноїдами, фікобілінами, фотоокиснення води, транспортування електронів за участю електронно-транспортного ланцюга з утворенням відновленої форми нікотинамідаденіндинуклеотидфосфату (НАДФ. H_2) і макроергічних сполук аденозинтрифосфату (АТФ). Певна частина синтезованих у світлових реакціях НАДФ. H_2 і АТФ у подальшому використовується в процесі синтезу органічних сполук із вуглекислого газу та води. Ці реакції відбуваються у стромі хлоропласта і їх називають темновими реакціями фотосинтезу, бо кванти світла в них безпосередньо не беруть участі. Стромою називають внутрішній вміст хлоропластів, де локалізовані ферменти, які фіксують та відновлюють вуглекислий газ до вуглеводів. 80 81 Засвоєння вуглекислого газу в хлоропласті, тобто асиміляція його вуглецю до складу органічних сполук, відбувається в складному циклі реакцій Кальвіна–Бенсона–Бассема. Найголовнішим ферментом темного циклу є рибулозобісфосфат-

карбоксилаза (оксигеназа) – РУБІСКО, яка забезпечує приєднання вуглекислоти до п'ятивуглецевої сполуки – вуглеводу рибулозобісфосфату. Утворений унаслідок такої реакції короткоіснуючий шестивуглецевий продукт розпадається з формуванням двох тривуглецевих молекул фосфогліцеринової кислоти (ФГК). Відновлення молекули ФГК до фосфогліцеринового альдегіду і є власне відновлювальною реакцією на шляху перетворення вуглекислого газу в молекулу вуглеводу. Наступні складні перетворення сполук у циклі Кальвіна–Бенсона–Бассема забезпечують регенерацію молекул рибулозобісфосфату для приєднання нової молекули CO₂, а також зумовлюють утворення стабільного продукту фотосинтезу – шестивуглецевого вуглеводу – глюкози. Усі фотосинтезуючі організми містять пігменти, які запускають фотофізичні та фотохімічні реакції фотосинтезу. Найважливіші з них хлорофіли (рис. 3.1) та каротиноїди (рис. 3.2), тому розділ «Фотосинтез» розпочинається з практичних занять, що розкривають хімічні та фізичні властивості фотосинтезуючих пігментів. Пігменти локалізовані в тилакоїдах хлоропластів, де пов'язані з мембранними білками і ліпідами. Для екстракції пігментів з рослинного матеріалу використовують полярні розчинники – етиловий спирт або ацетон, які денатурують білки і руйнують пігментліпопротеїновий комплекс.

Для характеристики фотосинтетичного апарату рослинних організмів використовують такі параметри, як кількісний вміст окремих пігментів, їх співвідношення і фракційний склад, міцність зв'язку хлорофілів із білком, фотохімічну активність, залежність вмісту пігментів від умов освітлення, живлення, етапів онтогенезу тощо. Досліджують також хімічне перетворення хлорофілів у хлорофілід і феофітин. Важливою характеристикою фотосинтезуючих пігментів є спектри поглинання світлової енергії та флуоресценції, активність ферменту хлорофілази, яка бере участь у біосинтезі хлорофілів. Різні види пігментів розпізнають за допомогою їхніх спектральних характеристик. Наприклад, спектри поглинання у різних груп хлорофілів залежать від характеру бічних груп пірольних кілець порфіринового ядра молекули і типу органічного розчинника. Потім виконують роботи, в яких визначають активність функціонування різних ферментів, інтенсивність фотосинтезу за накопиченням органічних сполук у тканинах і зміною концентрації вуглекислого газу або кисню в навколишньому середовищі (газометричні методи) на одиницю фотосинтезуючої поверхні за одиницю часу.

Робота 2. ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ПІГМЕНТІВ ЛИСТКА: РОЗПОДІЛ ПІГМЕНТІВ ЗА МЕТОДОМ К. КРАУСА, ОДЕРЖАННЯ ХЛОРОФІЛІНІВ

У розчинах, одержаних шляхом екстракції розтертих зелених тканин рослин полярними розчинниками, міститься суміш пластидних пігментів, які беруть участь у фотосинтезі. Хлорофіли, яких у листках значно більше, маскують при цьому каротиноїди. Отриманий екстракт пігментів можна розділити за методом Крауса, який оснований на різній розчинності пігментів у спирті та бензині. Ці розчинники у разі зливанні не змішуються й утворюють дві фази – верхню бензинову та нижню спиртову, завдяки чому й відбувається розподіл компонентів суміші. Спорідненість пігментів до полярних (спирт, ацетон) і неполярних (бензин) розчинників визначається рівнем їхньої полярності. Ксантофіли містять дві або більше полярних груп, добре розчинні у спирті, тоді як каротин відрізняється вищою спорідненістю до бензину. Фітольний залишок у молекулі хлорофілу гідрофобний, тому зумовлює можливість взаємодії молекули пігменту з бензином. Відщеплення фітолу під час омилення хлорофілу збільшує спорідненість пігменту до полярних розчинників. У разі обробки хлорофілу лугами, відбувається реакція омилення в результаті чого відщеплюються спиртові залишки і утворюються метиловий спирт, фітол та хлорофілінова сіль. Реакція омилення відбувається за рівнянням:



Унаслідок реакції утворюється сіль хлорофілінової кислоти, яка зберігає зелене забарвлення й оптичні властивості хлорофілу, але відрізняється більшою гідрофільністю порівняно з незміненим пігментом.

Мета роботи. Дослідити різну розчинність пластидних пігментів у спирті та бензині, провести реакцію омилення хлорофілу.

Матеріали, реактиви, обладнання. Спиртовий екстракт пігментів із листків різних рослин; бензин, 20 %-ий розчин гідроксиду калію або натрію; пробірки в штативах, вода, водяна баня.

Хід роботи

Завдання 1.

1. У пробірку налити 3 мл концентрованого екстракту пігментів, додати 6 мл бензину і 2÷3 краплини води.

2. Пробірку закрити скляною пробкою і вміст добре збовтати.

Примітка. За 2÷3 хв. спостерігають розшарування розчину на зелений (верхній) і жовтий (нижній) шари. У верхньому бензиновому шарі розчинені хлорофіли і каротин (гідрофобні речовини), у нижньому водно-спиртовому – ксантофіл. У нижньому шарі можна визначити спектр поглинання ксантофілу. Показником чистоти отриманого ксантофілу від зелених пігментів є відсутність поглинання в червоній ділянці спектру.

3. Зробити висновок щодо їхньої розчинності в спирті та бензині.

Завдання 2.

1. У пробірку налити 3 мл концентрованого екстракту пігментів, додати 1 мл 20 %-го розчину NaOH, вміст перемішати.

2. Пробірку поставити на киплячу водяну баню.

3. Щойно розчин закипить, пробірку вийняти й вміст охолодити.

4. До охолодженого розчину додати рівний об'єм бензину та декілька краплин води для кращого розподілу суміші.

5. Вміст пробірки різко струсити і залишити для відстоювання.

Примітка. Спостерігають утворення двох шарів: нижній (спиртовий) – суміш солі хлорофілінової кислоти (продукт омилення хлорофілу) та ксантофілу; верхній (бензиновий) – розчин каротинів. Солі хлорофілінової кислоти, як і хлорофіл, зелені, але характеризуються гідрофільністю і тому перерозподіляються в нижній водноспиртовий шар. У верхньому шарі можна визначити спектр поглинання каротину.

6. Зробити висновки.

Висновки

РОЗДІЛ 3.

Дихання рослин

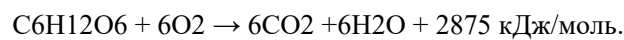


Дихання є одним з основних проявів обміну речовин та енергії між рослинним організмом і навколишнім середовищем. Це – сукупність фізіологічних процесів, що забезпечують надходження кисню в

організм та його використання для окиснення органічних речовин (вуглеводів, жирів, білків). На дихання рослини витрачають 20÷25 % органічної речовини, утвореної під час фотосинтезу. Синтезовані рослинним організмом фотоасиміляти належать до неспецифічних запасних речовин. Тому синтез інших сполук на їхній основі для специфічних потреб організму можливий лише після низки складних біохімічних перетворень. Хімічна енергія фотоасимілятів, як трансформована форма сонячної енергії, міститься в структурі хімічних зв'язків запасних сполук. У процесі розриву хімічних зв'язків органічних запасних речовин під час окиснення енергія вивільняється. Рослинний організм завдяки поступовому окисненню органічних сполук використовує цю енергію невеликими порціями. Вивільнена енергія витрачається на метаболічні процеси та на утворення нових, багатих на енергію хімічних зв'язків, наприклад АТФ. Внутрішньоклітинне дихання – це окиснювальний розпад органічних сполук за участю кисню, який зумовлює генерацію трансмембранного електрохімічного градієнта йонів водню ($\Delta\mu\text{H}^+$) і синтез хімічно активних метаболітів, що використовуються як джерела енергії (АТФ) або відновники (НАД.Н₂). Також утворюються проміжні продукти для різноманітних біосинтетичних реакцій організму. На перших двох етапах дихання (гліколіз, цикл трикарбонових кислот) відбувається відновлення коферментів НАД.Н та ФАД.Н, які на третьому етапі окиснюються в дихальному електронтранспортному ланцюзі мітохондрій.

АТФ утворюється під час окиснення молекул глюкози, жирних кислот й амінокислот, що використовуються як джерело енергії. У більшості біосинтетичних реакцій продукти перебувають у більш відновленому стані, ніж їхні попередники, тому, крім АТФ, вони потребують відновлювальних еквівалентів. Донором електронів у відновлювальних реакціях біосинтезу є

НАДФ.Н₂, тоді як НАД.Н₂ і ФАД.Н₂ – переносниками електронів під час окиснення молекул дихального субстрату. Основним субстратом дихання є вуглеводи. Жири та білки використовуються під час дихання паростків рослин, які розвиваються з багатих на жири чи білки насінин. Розщепленню субстратів у процесі дихання передують гідроліз: полімерних вуглеводів – до сахаридів, жирів – до гліцерину та жирних кислот, білків – до амінокислот. Окиснювально-відновлювальні перетворення субстратів дихання каталізують ферменти: дегідрогенази – активують водень; оксидази – активують кисень та ферменти, що виконують функцію проміжних переносників електронів (водню). Загальне рівняння дихання, якщо вихідним субстратом є вуглеводи, таке:



Якщо вихідним субстратом для дихання є білки або жири, то енергетичний ефект буде іншим. Вважається, що під час спалювання 1 г вуглеводів у середньому виділяється 17 кДж енергії, 1 г білків – 17 кДж, а жирів – 39 кДж. З наведеного сумарного рівняння слідує, що об'єми газів у разі окиснення вуглеводів однакові. Відношення об'ємів виділеного вуглекислого газу до поглинутого кисню називають дихальним коефіцієнтом (ДК). У разі окиснення вуглеводів ДК рівний одиниці. Коефіцієнт дихання може значно відхилятися від одиниці, якщо субстратом дихання є білки або жири. Зокрема, якщо субстрат багатий на йони водню, тоді частина кисню повітря використовується на окиснення не лише вуглецю, а й надлишкового водню, що є в субстраті. Саме тому коефіцієнт дихання для жирів менший за одиницю. Чим нижча величина дихального коефіцієнта, тим більший тепловий ефект окиснення, і навпаки. Загальним показником швидкості окиснення субстратів дихання є інтенсивність дихання. Різні тканини рослин різко відрізняються між собою за інтенсивністю дихання. Інтенсивність дихання є показником життєдіяльності рослин. Функції дихання не обмежуються запасанням енергії у вигляді АТФ. Дихання має важливе значення у процесах терморегуляції органів рослини, утворенні сполук вторинного метаболізму, знешкодженні шкідливих речовин. Різноманітність типів обміну речовин у рослин різних систематичних груп, віку, фізіологічного стану та за різних умов довкілля зумовлена специфічними особливостями реакцій процесу дихання.

Робота 3. ВИЯВЛЕННЯ ПЕРОКСИДАЗНОЇ АКТИВНОСТІ В КАРТОПЛЯНОМУ СОКУ

Визначення пероксидази в даній роботі базується на зміні забарвлення



Мета роботи. Дослідити реакцію окиснення поліфенолів у хінони та зробити висновки щодо наявності пероксидази в картопляному соку.

Матеріали, реактиви, обладнання. Бульби картоплі; 1 %-й розчин гідрохінону, 3 %-й розчин пероксиду водню; скальпель, терка, марля, лійка, конічна колба місткістю 50 мл, штатив із пробірками, піпетки на 1 та 10 мл.

Хід роботи

1. Натерти на терці невелику кількість очищеної бульби картоплі.
2. Віджати крізь марлю сік та зібрати його в колбу.
3. В чотири пробірки внести по 5 мл 1 %-го розчину гідрохінону.
4. У першу пробірку додати 1 мл 3 %-го розчину пероксиду водню та 1 мл картопляного соку.
5. У другу – 1 мл 3 %-го розчину пероксиду водню.
6. У третю – 1 мл картопляного соку.
7. У четверту додати 1 мл картопляного соку, попередньо прокип'яченого протягом хвилини та 1 мл H₂O₂.
8. Спостерігати за зміною забарвлення розчинів у пробірках і занотувати результати в таблицю 3.

Таблиця 3. Визначення пероксидазної активності в картопляному соку

Варіант досліджу	Склад суміші в пробірці			
	картопляний сік	H ₂ O ₂	гідрохінон	Забарвлення розчину в пробірках
1.	+	+	+	
2.	-	+	+	
3.	+	-	+	
4.	+	-	+	

Примітка. Окиснений гідрохінон перетворюється в хінон, який спричинює побуріння розчину. Деяке побуріння картопляного соку без додавання гідрохінону та пероксиду водню пояснюється дією поліфенолоксидази, яка окиснює поліфеноли картоплі з участю молекулярного кисню.

9. Провести експеримент на інших рослинах (наприклад, сукулентах, плодах або листках деревних рослин) і порівняти між собою результати.

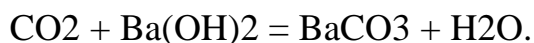
10. Зробити висновки про активність пероксидази у різних рослинних об'єктах.

Примітка. Якщо досліди проводяться навесні, то можна використовувати проростки картоплі.

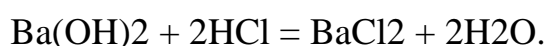
Висновки

Робота 4. ВИЗНАЧЕННЯ ІНТЕНСИВНОСТІ ДИХАННЯ ЗА КІЛЬКІСТЮ ВИДІЛЕНОЇ ВУГЛЕКИСЛОТИ (за П. Бойсен-Йенсен)

Дихання – це складний фізіологічний процес, який є інтегральним показником метаболізму рослин. Окиснювальний апарат рослин має свої специфічні особливості. Насамперед, на відміну від тварин, для нього характерні: • делокалізація дихального апарата (мітохондрії, пероксисома, цитоплазма та ін.); • поліфункціональність, тобто наявність каталізаторів, що характеризуються багатьма властивостями; • принцип, коли в організмі є кілька ферментів, які каталізують однакові або близькі реакції. Оскільки процес дихання супроводжується поглинанням кисню та виділенням вуглекислого газу, то інтенсивність дихання можна визначити або за кількістю поглинутого кисню, або за кількістю виділеного вуглекислого газу. Найкращим об'єктом для проведення цієї роботи є проросле насіння. Для визначення інтенсивності дихання за кількістю виділеної вуглекислоти в колбу наливають певну кількість луку і закріплюють до корка наважку досліджуваного матеріалу у вузлику з марлі. Вуглекислота, яка виділяється під час дихання насіння, взаємодітиме з лугом за рівнянням:



Надлишок бариту титрують розчином HCl до зникнення малинового забарвлення (індикатор фенолфталеїн). Реакція відбувається за рівнянням:



Тривалість досліду залежить від кількості взятого для досліду пророслого насіння та інтенсивності дихання досліджуваного об'єкта. Порівнюючи одержані величини в досліджуваній та контрольній колбах, визначають інтенсивність дихання, яка пропорційна кількості виділеної вуглекислоти.

Мета роботи. Оволодіти методом визначення інтенсивності дихання різних рослинних об'єктів за кількістю виділеної вуглекислоти.

Матеріали, реактиви, обладнання. Проросле насіння різних видів рослин; 0,025 н. розчин $\text{Ba}(\text{OH})_2$, 0,025 н. розчин HCl , фенолфталеїн; бюретка для

титрування, конічні колби місткістю 250÷300 мл із гумовими корками, в які вставлено металеві гачки, ваги, шматочки марлі.

Хід роботи

1. Наважку пророслого насіння (2÷3 г) помістити у марлевий мішечок.

2. Прикріпити мішечок до гачка, вмонтованого у гумовий корок (рис.1).

3. У колбу налити 5 мл розчину $\text{Ba}(\text{OH})_2$ і додати 1÷2 краплі фенолфталеїну.

4. Щільно закрити колбу корком. Записати час початку досліду.

5. Паралельно взяти іншу колбу без насіння (контроль) і налити таку саму кількість бариту з фенолфталеїном. Примітка. Періодично колби слід обережно коливати (барит не повинен торкатися мішечка з насінням), щоб порушувати плівку BaCO_3 на поверхні бариту для більш повного поглинання вуглекислоти. Впродовж досліду забарвлення бариту має бути яскраво-рожевим. Якщо ж забарвлення розчину стає блідим, а потім зникає, це свідчить про те, що увесь барит використався на зв'язування CO_2 . У цьому разі слід терміново долити з бюретки 5 мл розчину $\text{Ba}(\text{OH})_2$ у дослідну і контрольну колби.

6. За 1 год. мішечок з насінням швидко вийняти, а колбу знову закрити корком.

7. Надлишок лугу у дослідній колбі титрувати 0,025 н. розчином HCl до повного зникнення рожевого відтінку.

Примітка. Контрольну колбу можна титрувати через 30 хв. після того, як туди налили розчин бариту.

8. Результати записати у таблицю 4.

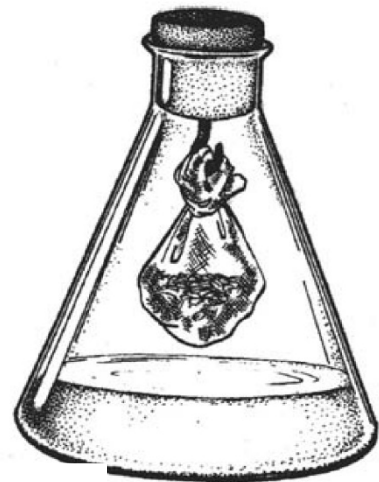


Рис. 4.1. Колба для визначення інтенсивності дихання за методом П.Бойсен-Йенсен

Таблиця 4. Визначення інтенсивності дихання різних рослин

Об'єкт	Наважка I, (P)	Кількість Ba(OH) ₂	Час, хв			Кількість HCl, мл	Інтенсивність дихання, мг CO ₂ / (г . год) (I)

9. Інтенсивність дихання обчислити за формулою:

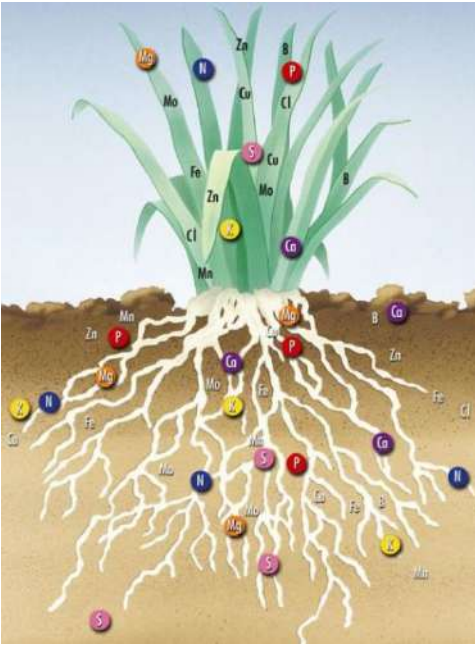
$$I = \frac{(a - b) \cdot 0,55}{P \cdot t},$$

де *a* – результат титрування контрольної колби, мл; *b* – результат титрування дослідної колби, мл; 0,55 – кількість мг CO₂, що еквівалентна 1 мл 0,025 н. HCl; *P* – наважка, г; *t* – експозиція, год. 10. Після проведення розрахунків і зіставлення одержаних даних різних рослинних об'єктів зробити висновки.

Висновки

РОЗДІЛ 4.

Кореневе живлення рослин



Кореневе живлення – розділ фізіології рослин, який присвячений вивченню метаболізму поживних елементів. Основні питання, які досліджуються в даному розділі є: надходження елементів живлення в рослинний організм, їх перетворення, фізіолого-біохімічне значення, механізм дії тощо. Рослина засвоює поживні елементи з ґрунту, повітря і води. Основну частину елементів рослина засвоює з ґрунту у вигляді мінеральних сполук; CO₂ та кисень – з повітря; джерелом водню є вода. Обидва способи живлення рослин – повітряний і кореневий – взаємопов’язані. Наразі у рослин чітко проявляється вибіркова здатність поглинати відповідні хімічні елементи. Усі елементи живлення рослин за їхнім умістом у клітинах поділяють на елементи-органогени, макро-, мікро- та ультрамікроелементи. У більшості рослин близько 95 % сухої речовини складають елементи-органогени (C, H, O, N), приблизно 4% – макроелементи (P, K, Ca, Mg, S, Cl, Na, Si, Al, Fe) і лише 1 % – мікроелементи (Mn, B, Cu, Zn, Ba, Ni, Mo, Co) та ультрамікроелементи (Cs, Cd, Ag, Ra, Au, Hg, As та ін.). Для нормального перебігу всіх фізіолого-біохімічних процесів рослина має бути забезпечена всіма поживними елементами, кожен із яких має певне значення у метаболізмі. Зокрема, встановлена необхідність елементів живлення для нормального функціонування протоплазми, для структурної організації й активності живих клітин, передусім завдяки їх участі у генерації і регенерації енергії, для регуляції процесів обміну. Дослідження функції елементів живлення у життєдіяльності рослин дає змогу науковцям і практикам досягати високої продуктивності сільськогосподарських культур. Вирішення багатьох практичних завдань живлення рослин потребує глибоких теоретичних досліджень, вивчення фізіологобіохімічного значення поживних елементів, механізму їхнього поглинання, транспортування і використання рослиною. Відповідь на всі ці питання можна одержати експериментальним шляхом, застосовуючи фізіологічні, хімічні і фізико-хімічні методи.

Робота 5. МІКРОХІМІЧНИЙ АНАЛІЗ ЗОЛИ

Серед усіх поживних елементів у рослин 24 хімічні елементи є життєво необхідними, 21 елемент вважають умовно необхідними. Життєво необхідні – це елементи, без яких рослина не може повністю закінчити цикл свого розвитку і які не можуть бути заміненими іншими елементами. Фізіологічне значення умовно необхідних елементів остаточно не досліджено. Елементи, необхідні рослинам, відносяться до різних груп періодичної системи елементів Менделєєва. Наразі слід зазначити, що у високих концентраціях більшість елементів токсичні для рослин. Для встановлення хімічного складу золи застосовують мікрохімічний метод – якісні реакції, в результаті яких утворюються характерні для певних речовин кристали або забарвлення розчину. Цей метод не потребує значної кількості матеріалу. Аналіз дає змогу виявляти як макро-, так і мікроелементи.

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

Матеріали, реактиви, обладнання. Зола листків різних видів рослин; дистильована вода, аміак, водний розчин соляної кислоти, 1 %-ві розчини: сірчаної кислоти, фосфату натрію, жовтої кров'яної солі, тартрату натрію, щавлевої кислоти,; пробірки (по чотири на учня), скляні палички, штативи для пробірок, предметні стекла, маленькі лійки, мікроскопи, фільтрувальний папір, порцелянові пластинки.

Хід роботи

Мінеральні речовини, що входять до складу золи, розчинні у воді, або кислоті. Тому для мікрохімічного аналізу готують два розчини золи: у воді і в 1 %-й соляній кислоті.

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

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

2.1. Виявлення калію. Для реакції використовують як водну, так і

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

2.2. Виявлення кальцію. Для реакцій на кальцій і наступні елементи використовують кислотну витяжку золи. • Реактив – сірчана кислота. Відбувається реакція: $\text{CaCl}_2 + \text{H}_2\text{SO}_4 \rightarrow \text{CaSO}_4 + 2 \text{HCl}$. У результаті реакції утворюються характерні довгі тонкі голки гідратованого сульфату кальцію $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (гіпс), потім голки об'єднуються в структури, що нагадують сніжинки, які накопичуються одна на одну (рис. 5.1). Голки можуть переходити в тонкі призми та маси пластинок, що накопичуються одна на



Рис. 5.1. Кристали (під мікроскопом): 1 – хлориду талію; 2 – свинцево-мідного нітрату калію; 3 – сульфату кальцію (гіпсу); 4 – фосфорно-аміачно-магнезійної солі; 5 – фосфорномолібдату амонію.

іншу. • Реактив – щавлева кислота. У результаті реакції випадають кристали оксалату кальцію ($\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) у вигляді октаедрів, кубів, інколи хрестів.

2.3. Виявлення магнію. • Реактив – фосфат натрію Na_2HPO_4 . Спочатку в краплину досліджуваної рідини додають краплину аміаку для нейтралізації і вже потім з'єднують із реактивом дугоподібним каналом. Відбувається реакція: $\text{MgCl}_2 + \text{Na}_2\text{HPO}_4 + \text{NH}_3 \rightarrow \text{NH}_4\text{MgPO}_4 + 2\text{NaCl}$. У результаті реакції утворюються кристали фосфорно-аміачно-магнезіальної солі у вигляді кришечок, сніжинок, крил, квадратів, прямокутників, зірок (рис.).

2.4. Виявлення заліза. • Реактив – жовта кров'яна сіль $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$. Реакція відбувається у пробірці або на порцеляновій пластинці. До кількох краплин досліджуваної рідини поступово додати кілька краплин 1 %-го розчину жовтої кров'яної солі. Відбувається реакція: $4\text{FeCl}_3 + 3\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \rightarrow \text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3 + 12\text{KCl}$.

Наявність заліза визначають за утворенням берлінської лазурі яскраво-синього забарвлення. 3. Препарувальною голкою з'єднати обидві краплини дугоподібним каналом.

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

4. Препарат розглянути під мікроскопом без накривного скельця (об'єктив x8, x10, окуляр x15)

5. Результати мікрохімічного аналізу записати у таблицю 5.

Таблиця 5. Мікрохімічний аналіз золи

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

Висновки

Робота 6. АНТАГОНІСТИЧНИЙ ВПЛИВ ЙОНІВ K^+ і Ca^{2+} НА ЦИТОПЛАЗМУ РОСЛИННОЇ КЛІТИНИ

Питання про причини антагоністичного впливу йонів на рослинний організм – одне із найважливіших у теорії кореневого живлення – на сьогодні залишається остаточно не дослідженим. Встановлено, що йони-антагоністи не лише протилежно впливають на фізико-хімічні властивості протоплазми та на певні ланки обміну речовин, а й конкурують за участь в органічному комплексі та ферментативному каталізі. Класичними прикладами антагонізму є конкуренція між йонами калію та кальцію, натрію та калію, амонію та калію, а також між різними двовалентними катіонами. Прояви антагонізму різноманітні, а приклади його численні: рослини, які вирощують на середовищі із високим вмістом калію, фосфору й заліза, страждають від недостатньої кількості фосфору; у рослин, які отримали помірні дози заліза і калію, за високого вмісту фосфору розвивається апікальний хлороз і ознаки нестачі калію в старих листках; молібден гальмує надходження заліза й уповільнює його рух у верхній частині рослин. Таким чином, формування високих врожаїв із високою якістю продукції залежить не лише від кількості поживних речовин, а й від співвідношення елементів мінерального живлення.

Мета роботи. Виявити антагонізм йонів калію та кальцію на цитоплазму рослинної клітини.

Матеріали, реактиви, обладнання. Синя цибуля; 1 М розчин KNO_3 , 1 М розчин $Ca(NO_3)_2$; мікроскопи, предметні стекла й покривні скельця, скальпелі, леза бритв, препарувальні голки, скляні палички, невеликі скляні бюкси з притертими кришками.

Хід роботи

1. У три бюкси з притертими кришками налити по 5 мл 1 М розчину KNO_3 , 1 М розчину $Ca(NO_3)_2$ та суміш розчинів, що складається з 9 частин першого і 1 частини другого

$$\left(\frac{1 \text{ M } KNO_3}{1 \text{ M } Ca(NO_3)_2} = \frac{9}{1} \right).$$

2. У розчині занурити шматочки епідерми луски цибулі, клітини якої забарвлені пігментами у фіолетовий колір. 3. За 30 хв. зрізи вийняти і розглянути під мікроскопом. Примітка. У клітинах епідерми зрізів, які були в розчині нітрату калію, спостерігатиметься ковпачковий плазмоліз. Це – результат впливу на цитоплазму йонів калію. В клітинах епідерми, що зазнали впливу йонів кальцію, ковпачкового плазмолізу не буде. В клітинах епідерми, які перебували в третьому розчині, ковпачковий плазмолізу також не спостерігається. Отже, за сумісної дії, йони кальцію мають антагоністичний вплив на йони калію. Незначна кількість йонів кальцію у розчині з йонами калію повністю нівелює вплив останнього на цитоплазму.

Дослід можна ускладнити, якщо приготувати кілька розчинів нітрату калію з нітратом кальцію. Їх змішують у співвідношенні: 90:10; 91:9; 92:8; 93:7; 94:6; 95:5; 96:4; 97:3; 98:2 і 99:1. Залежно від фізіологічного стану клітин антагоністичний вплив кальцію на йони калію припиняється, коли концентрація Ca^{2+} буде в межах від 1/35 до 1/60 загальної концентрації солей.

4. Результати спостережень записати у таблицю 6.

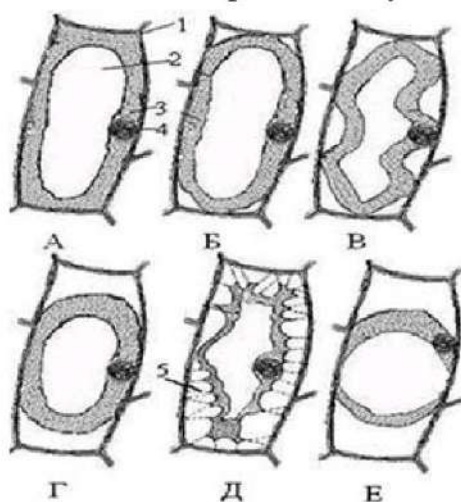


Рис. Різні форми плазмолізу в клітинах епідерми цибулі:
 А – плазмоліз відсутній; Б – кутовий;
 В – увігнутий; Г – опуклий;
 Д – судомний; Е – ковпачковий;
 1 – клітинна стінка; 2 – вакуоля;
 3 – цитоплазма; 4 – ядро.

Таблиця 6. Вивчення антагоністичного впливу йонів K^+ і Ca^{2+} на цитоплазму рослинної клітини

Варіант досліду	Тривалість експозиції, год	Наявність плазмолізу	Форма клітини
1 М KNO ₃			
1 М Ca(NO ₃) ₂			
$\frac{1 \text{ М KNO}_3}{1 \text{ М Ca(NO}_3)_2} = \frac{9}{1}$			

5. Зробити висновки щодо отриманих результатів.

Висновки

Робота 7. СПРОЩЕНИЙ МЕТОД ВИЗНАЧЕННЯ НІТРАТІВ У РОСЛИНАХ

Одним із методів визначення нітратів є використання реакції нітрат-йону з дифеніламіном, під час якої розвивається синє забарвлення. За інтенсивністю посиніння роблять висновок щодо кількості нітратів у об'єкті дослідження.

Мета роботи. Використовуючи напівкількісний швидкий метод, провести порівняльне визначення вмісту нітратів у різних рослин.

Матеріали, реактиви, обладнання. Картопля, капуста, буряк столовий, морква тощо; 1 %-й розчин дифеніламіну в концентрованій сірчаній кислоті, контрольний розчин нітратів (1,631 г хімічно чистого сухого KNO_3 розчиняють у воді та доводять до 1 л); ручний прес для вичавлювання соку з рослин, чашки Петрі, піпетки, скальпелі.

Хід роботи

1. З контрольного розчину нітратів виготовити стандартні розчини концентрацією: 1000, 500, 250, 125, 10 мг/л.
2. Чашку Петрі поставити на білий папір, на дно чашки нанести по краплині стандартних розчинів різної концентрації, а також краплину соку досліджуваної рослини, вичавлюючи її ручним пресом. Примітка. Замість краплини соку можна використати гомогенну масу, отриману з рослинної проби в об'ємі краплини.
3. До стандартних розчинів і клітинного соку додати по одній краплині дифеніламінового реактиву.

Примітка. Поява синього забарвлення свідчить про наявність нітратів. Впродовж 1÷2 хв. забарвлення змінюється, тому оцінювати його треба відразу, порівнюючи зі стандартними розчинами. Під час виконання цієї роботи доцільно вивчати такі питання: як впливає освітлення на вміст нітратів у різних органах рослин; в яких органах рослини перетворюються нітрати; як відновлюються нітрати в злакових і бобових рослинах.

4. Результати дослідів оцінити за шкалою стандартних розчинів нітратів і записати у таблицю 6.

Таблиця 6. Визначення вмісту нітратів у рослинах

Об'єкт дослідження	Умови вирощування	Фаза онтогенезу	Вміст нітратів (середнє з трьох повторностей), мг/л			
			У листку	У стеблі	У корені	Сумарний

Висновки

РОЗДІЛ 5.

Стійкість рослин



Поняття стрес перенесено в фізіологію рослин і існує напрямок - стрес-фізіологія рослин. Спостережуваний при стресі комплекс метаболічних перебудов

у рослин названий фітостресом (Генкель, 1982).

У фітофізіології термін «стрес» використовується в двох різних аспектах.

Здатність до захисту від дії несприятливих чинників середовища - обов'язкова властивість будь-якого живого організму, включаючи вищі рослини.

Ця функція з'явилася одночасно з виникненням перших живих організмів і в ході подальшої еволюції розвивалася і вдосконалювалася.

На кожній стадії розвитку здатність рослин до пристосування до несприятливих умов (низька температура, посуха, засолення ґрунту і т.д.) виражена в різному ступені. Ця здатність рослин пов'язана з глибоким зміною обміну і визначається швидкістю і глибиною його зміни без порушення узгодженості між окремими функціями, завдяки чому не порушується єдність організму і середовища. Це, в кінцевому рахунку, і визначає життєдіяльність організму і його витривалість.

Для вищих рослин характерний активний шлях адаптації до несприятливих факторів середовища, наприклад, до несприятливих умов водного режиму. Завдяки цілому комплексу гідрорегулюючих пристосувань, що проявляються на будь-якій стадії онтогенезу і відрізняються автоматизмом і динамічністю дії, рослини здатні протистояти факторам зовнішнього середовища. До таких пристосувань, завжди спрямованих на посилення поглинання і зниження випаровування води, відносяться посилений ріст кореневої системи, зростання водоутримуючої здатності, закривання продохів і ін.

Так само як стійкість до нестачі або надлишку води, низьким і високим температурам, нестачі кисню, засолення і загазованості середовища, іонізуючого випромінювання, інфекцій і ін. Ці несприятливі фактори останнім

часом часто називають стресором, а реакцію організму на будь-які відхилення від норми - стресом.

Здатність рослини переносити дію несприятливих чинників і давати в таких умовах потомство називається стійкістю або стрестолерантністю.

Таким чином, стійкість - це здатність рослин зберігати постійність внутрішнього середовища (гомеостаз) і здійснювати життєвий цикл в умовах дії стресорів.

Робота 8. ВИЗНАЧЕННЯ ЖАРОСТІЙКОСТІ РОСЛИН

(за Ф. Ф. Мацковим)

Вплив високих температур спричинює пошкодження структури й функції цитоплазматичних мембран, білків, гальмує рух цитоплазми, знижує мітотичний індекс тощо. Для з'ясування специфіки адаптації рослин до дії високих температур доцільними є дослідження їх фотосинтетичного апарату. Наразі за дії високих температур у клітинах мезофілу листка відбувається пошкодження цілісності напівпроникних мембран, внаслідок чого відбувається дифузія речовин по клітині та за її межі. Такий листок, занурений у розчин соляної кислоти, може набувати бурого забарвлення в результаті феофітинізації (окиснення) хлорофілів. За ступенем феофітинізації можна оцінювати жаростійкість рослин.

Мета роботи. Визначити рівень жаростійкості рослин різних видів.

Матеріали, реактиви, обладнання. Зелені листки різних видів рослин (сентполії, традесканції, пеларгонії, пеперомії, бегонії, плюща); 0,2 н. розчин соляної кислоти; водяна баня, термометри, піпетки, чашки Петрі, кристалізатори, чайник з киплячою водою, олівці по склу.

Хід роботи

1. Нагріти водяну баню до 40 °С.
2. Занурити в неї по 5 листків кожного виду рослин і витримати протягом 30 хв., підтримуючи температуру водяної бані.
3. Взяти першу пробу, витягуючи по одному листку кожного виду рослин, і охолодити їх у чашці Петрі з холодною водою.
4. Збільшити температуру водяної бані до 50 °С і через 10 хв. витягнути ще по одному листку і охолодити їх у новій чашці Петрі з холодною водою.
5. Збільшити температуру водяної бані до 60 °С і через 10 хв. витягнути ще по одному листку, охолодити.
6. Аналогічно інкубувати листки за дії 70 °С та 80 °С. Листки охолодити.

7. Воду в чашках Петрі замінити на 0,2 н. розчин HCl і за 20 хв. оцінити ступінь пошкодження листків за величиною бурих плям.

8. Результати досліджень записати в таблицю 7, відмічаючи: відсутність побуріння знаком «-», незначне побуріння – «+», побуріння понад 50 % площі листка – «++», повне побуріння – «+++».

Таблиця 7. Визначення жаростійкості рослин за ступенем феофітинізації клітин мезофілу листка

Об'єкт дослідження	Ступінь пошкодження листків за температури, °C				
	40	50	60	70	80

9. Зробити висновки щодо жаростійкості рослин різних екологічних груп.

Висновки

Робота 9. ЗАХИСНИЙ ВПЛИВ ЦУКРІВ НА КОАГУЛЯЦІЮ БІЛКІВ ЦИТОПЛАЗМИ ЗА ДІЇ НИЗЬКИХ ТЕМПЕРАТУР

Порушення структури і функції білків цитоплазми може бути зумовлено їх коагуляцією за дії несприятливих факторів середовища (холоду, спеки тощо). За дії пошкоджуючих факторів в клітинах інтенсифікується синтез захисних речовин – кріопротекторів – зокрема, низькомолекулярних вуглеводів, які стабілізують структуру біоколоїдів.

Мета роботи. Дослідити протекторні властивості низькомолекулярних вуглеводів за дії низьких температур.

Матеріали, реактиви, обладнання. Бульби картоплі; 0,5 та 1 М розчини сахарози, сніг (лід), кухонна сіль, 0,6 М розчин NaCl; тертка, марля, колби, піпетки об'ємом 10 мл, пробірки, кристалізатори, термометри, ніж.

Хід роботи

1. Натерти на тертці очищені бульби картоплі.
2. Сік відцідити крізь подвійний шар марлі в колбу і дати крохмалю відстоятися.
3. Супернатант налити у три пробірки по 2,5 мл.
4. У першу пробірку додати 2,5 мл дистильованої води, в другу – 2,5 мл 0,5 М розчину сахарози, а в третю – 1 М розчин сахарози, в четверту – 2,5 мл 0,6 М розчину NaCl.
5. Вміст пробірок перемішати і експонувати їх впродовж 20 хв. в охолоджуючій суміші (лід із сіллю у співвідношенні 3:1 за об'ємом).
6. Пробірки помістити у склянку з водогінною водою кімнатної температури. Примітка. Вміст пробірок не струшувати. Спостерігають утворення осаду коагульованого білка.
7. За отриманими результатами зробити висновки щодо впливу різних концентрацій сахарози і хлориду натрію на стійкість рослинних клітин до дії низьких температур.

Висновки

РОЗДІЛ 6.

Ріст і розвиток рослин



Ріст – це незворотне збільшення розмірів і маси клітин, тканин і органів рослин, пов’язане з новоутворенням елементів їхньої

структури. Розвиток – це якісні зміни в структурі та життєдіяльності рослин в онтогенезі. З наведених означень зрозуміло, що ріст і розвиток належать до інтегральних процесів, вивчення яких потребує багатогранного підходу, їх слід досліджувати на різних рівнях організації – субклітинному (молекулярному, надмолекулярних комплексів, окремих органел), тканинному, органному та рівні організму. Це можливо у разі застосування сучасних методів молекулярної біології, біохімії, цитології, гістології, імунології, біофізики, фізіології та ін. Лише всебічний аналіз процесів дає можливість проникнути в глибинні механізми росту та розвитку і відкриває можливості регуляції життєдіяльності рослин. Ріст і розвиток детермінуються генетично та реалізуються під впливом багатоваріантних умов довкілля, фактори якого моделюють експресію геному. Серед них велике значення мають метеорологічні фактори, трофічна, електрофізіологічна і фітогормональна регуляції. Ріст пов’язаний з локально розташованими твірними тканинами, тому частина лабораторних робіт розділу знайомить студентів із зонами росту рослин і цитологічними особливостями їхніх клітин. Звернуто увагу на початковий етап онтогенезу рослин – проростання насіння і методи визначення його життєздатності, явище апікального домінування, гео- і фототропічні реакції. Низка завдань присвячена вивченню ролі фітогормонів і вегетативному розмноженню рослин. Ці досліді потребують значного інтервалу часу, їх доцільно проводити під час літньої виробничої практики.

Робота 10. ВИЯВЛЕННЯ ВПЛИВУ ІНДОЛІЛОЦТОВОЇ КИСЛОТИ (ІОК) НА РІСТ ВІДРІЗКІВ КОЛЕОПТИЛІВ ВІВСА

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

Мета роботи. Дослідити вплив різних концентрацій ауксину (індолілоцтової кислоти – ІОК) на ростові процеси в фазі розтягнення клітин, використовуючи як біотест колеоптилі вівса. **Матеріали, реактиви, обладнання.** Проросле насіння вівса, довжина колеоптилів якого не менша за 1,5 см (100÷200 шт.); дистильована вода, 2 %-й розчин сахарози, розчин ІОК (1 г на 1 л); шість пробірок у штативі, шість чашок Петрі з кришками, градуйовані піпетки на 5 і 10 мл, різак для нарізання колеоптилів, пензлик. Виготовлення розчину ІОК. 0,3 г ІОК розчиняють в 0,5 мл етанолу. Розчин розбавляють водою до 100 мл, нагрівають до 80 °С 5 хв., після чого об'єм його доводять до 250 мл.

Хід роботи

1. У шість пронумерованих пробірок наливають по 18 мл 2%-го розчину сахарози, необхідної як джерело енергії.
2. У першу пробірку наливають 2 мл розчину ІОК, збовтуючи її вміст. Чистою піпеткою з неї беруть 2 мл розчину і вносять його в другу пробірку. З другої пробірки теж відбирають 2 мл і вливають у третю пробірку. Операцію повторюють. У шосту (контрольну) пробірку наливають 2 мл води. Таким чином готують розчини п'яти концентрацій індолілоцтової кислоти.
3. Виготовлені розчини і воду наливають у шість чашок Петрі, в які пензликом вносять по 10 декапітованих (без апексів) колеоптилів завдовжки 10 мм. Верхівки їх відрізають, щоб природні ауксини, які синтезуються в них, не впливали на ріст. Колеоптилі зручно нарізати спеціальним різакон, відступаючи 3 мм від верхівок.

4. Чашки накривають кришками і залишають у темряві на 3 дні за температури 25 °С.

5. За три дні вимірюють довжину колеоптилів. Результати записують у таблицю 8. Будують графік залежності довжини колеоптилів (відкладають дані на осі ординат) від концентрації ауксину (вісь абсцис). Дані досліду обробляють статистично і роблять висновок про вплив різних концентрацій ІОК на ріст колеоптилів.

Таблиця 8. Вплив ІОК на ріст колеоптилів вівса

Номер чашки Петрі	Довжина колеоптилів, мм		Приріст колеоптилів, мм
	початкова	кінцева	

Висновки

Робота 11. ПЕРЕТВОРЕННЯ РЕЧОВИН ПІД ЧАС ПРОРОСТАННЯ НАСІННЯ

Насіння рослин містить різноманітні запасні поживні речовини – білки, жири, вуглеводи. Насіння, в якому основною запасною речовиною є крохмаль, називають крохмальним (наприклад, насіння пшениці, жита, гороху), а те, в якому жири переважають над вуглеводами – олійним (наприклад, насіння рицини, соняшника, ріпака). Під час проростання насіння складні запасні речовини за участю ферментів перетворюються у простіші, які використовуються в процесі росту й розвитку паростка. Усі моносахариди, а також дисахариди завдяки наявності альдегідної або кето-групи є редукуючими, тобто мають відновлювальні властивості. Сахароза – нередукуючий цукор. Характерною реакцією на редукуючі цукри є відновлення рідини Фелінга.

Мета роботи. Встановити перетворення, яких зазнають запасні поживні речовини під час проростання насіння. Порівняти хімічний склад непророслого та пророслого насіння.

Матеріали, реактиви, обладнання. Сухе і проросле насіння пшениці та соняшнику, рідина Фелінга, розчин І у КІ, розчин судану, водяна баня, фарфорові ступки, скальпелі, мікроскоп, предметні стекла, накривні скельця, препарувальні голки, фільтрувальний папір.

Хід роботи

1. Розтирають у чотирьох ступках по 10 непророслих і пророслих насінин пшениці та соняшнику.
2. Розтерту масу переносять у чотири підписані пробірки, доливають воду до половини об'єму пробірки і ставлять на 15 хв. на киплячу водяну баню для екстракції розчинних речовин.
3. Зливають витяжки у чисті підписані пробірки, доливають рівний об'єм рідини Фелінга та витримують 5 хв на киплячій водяній бані.
4. За кількістю Cu_2O , що утворився, оцінюють вміст редукуючих цукрів.

5. До залишку матеріалу у пробірках першої групи доливають розчин йоду і за інтенсивністю посиніння оцінюють вміст крохмалю.

6. Роблять тонкі зрізи пророслого і непророслого насіння соняшнику, поміщають їх на предметні стекла в краплі розчину фарби судан III і накривають накривними скельцями.

7. За 5 хв. зрізи промивають водою, розглядають у мікроскоп та оцінюють вміст жиру за кількістю і розмірами червоних або оранжевих крапель. Результати записують в таблицю 10, оцінюючи вміст крохмалю, цукру та жиру за п'ятибальною шкалою.

Таблиця 10. Перетворення речовин під час проростання насіння

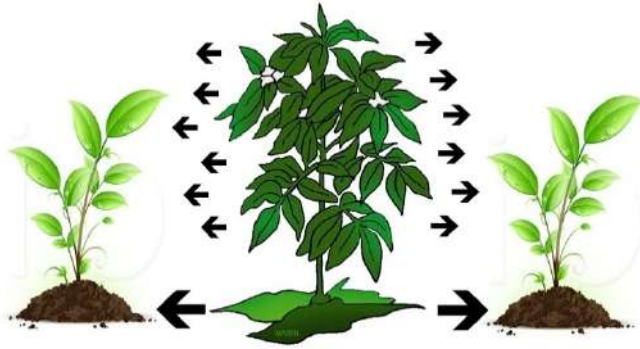
Насіння		Крохмаль	Редукуючі цукри	Жири
Крохмальне	сухе			
	проросле			
Олійне	сухе			
	проросле			

Роблять висновки про перетворення вуглеводів і жирів під час проростання крохмального та олійного насіння.

Висновки

РОЗДІЛ 7.

Алелопатія рослин



Алелопатія – це взаємний вплив рослин, що входять до складу фітоценозу, зумовлений

виділенням ними у довкілля фізіологічно активних речовин. Термін алелопатія запровадив у 1937 р. німецький учений Г. Моліш (від грецького «алелос» – взаємний і «патон» – вплив). Відомий український учений акад. А. М. Гродзінський запропонував нову схему алелопатії як колообігу фізіологічно активних речовин у біогеоценозі. Останній є регулятором взаємозв'язків, спричинює рівновагу стійкості та зміни рослинних угруповань.

До складу алелопатичних речовин, зазвичай належать алкалоїди, глікозиди, органічні кислоти, сапоніни, кумарини, флавоноїди, терпени, що входять до складу ефірних олій, дубильні речовини тощо. Їхній склад та концентрація може значно варіювати від органу рослини, фізіологічного стану, умов зростання. Рослини здатні виділяти алелопатичні речовини у повітря, ґрунт, воду. Під дією зовнішньому середовищі біологічно активні речовини можуть набувати змін, піддаватися ряду хімічних перетворень.

Класифікація алелопатичних речовин за А. М. Гродзінським (відображає походження виділень, принцип їх алелопатичної дії, враховує взаємодію з навколишнім середовищем):

1 – група: речовини вторинного походження – алелопатично активні сполуки видоспецифічні, можуть бути продуктами нормального метаболізму чи утворюватися у відмерлих рослинах. Під впливом ефірних олій в ґрунті накопичуються коліни, які зумовлюють ґрунтовтому. *До цих речовин належать:* органічні кислоти, ефірні олії, алкалоїди, вітаміни, антибіотики сапоніни, глікозиди, флавоноїди, дубильні речовини та інші поліфеноли тощо.

2 – група: високотоксичні сполуки, які утворюються внаслідок автолізу білків рослинного та мікробного походження. Їм не притаманна видова специфічність, вони присутні в живих і відмерлих тканинах рослин, виділеннях живих організмів. *До них належать:* пептиди, амінокислоти, нуклеозиди, органічні кислоти, амідні кислот, аміно- та імінопохідні, індолпохідні, аміак.

3 – група: належать різні продукти мінералізації і гуміфікації рослинних тканин – гумінові кислоти та їх похідні, вищі жирні кислоти, нафтохінони, антрахінони, складні хінони, корична кислота та її похідні

Лабораторна робота №12

Мета дослідження: вивчити алелопатичну активність різних рослин, навчитися визначати алелопатичний індекс рослин, розвинути уявлення про форми прямих міжвидових взаємовідносин рослин, вміння порівнювати та систематизувати інформацію, виховати бережливе ставлення до рослин.

Матеріали та методи:

- листя горіха волоського, кропива, полин, акація
- насіння крес-салату
- дистильована вода
- пробірки для зберігання екстракту
- шумівка або сито
- чашки Петрі
- піпетки
- фільтрувальний папір
- лінійки, олівці, ручки.

Хід роботи

1. Отримати водні екстракти алелопатичних рослин: (за методикою А.М. Гродзинського): подрібнити наземну частину (стебла, листя, суцвіття) рослини та настояти її протягом 24 год. при кімнатній температурі у співвідношенні рослина і вода 1:10 (наприклад, 10 г. рослин на 100 мл. води). Розфасувати отриманий екстракт до пробірок, підписати вказавши дату створення та прізвище автора.

2. Насіння тест-культури (крес-салату) розкласти у чашки Петрі на фільтрувальний папір змочений дистельованою водою та додати екстракт алелопатичної рослини. У контрольному варіанті насіння пророщують лише з дистельованою водою. Зразки пророщують при кімнатній температурі.

3. Підрахунок пророслих насінин та визначення довжини їх проростання здійснюють через кожні 24 години. При необхідності насіння періодично зволожують.

4. Отримані результати спостережень внести до *табл. 1.* «Вплив екстрактів алелопатичних рослин на проростання насіння крес-салату».

Таблиця 1. Вплив екстрактів алелопатичних рослин на проростання насіння крес-салату.

Концентрація екстракту рослин	Кількість насінин, що проросли	Довжина рослин (мм.)	Зміна кольору	Кількість рослин, що захинули	Особливі відмітки
24 год.					
Зразок 1. _____					
<i>Контроль</i>					
Зразок 2. _____					
<i>Контроль</i>					
Зразок 3. _____					

<i>Контроль</i>					
Зразок 4. _____					
<i>Контроль</i>					
Зразок 5. _____					
<i>Контроль</i>					

Висновки

Лабораторна робота №13

Алелопатія рослин (продовження)

1. Провести повторний аналіз насіння крес-салату, результати спостереження внести до *таблиці 2*.

Таблиця 2. Вплив екстрактів алелопатичних рослин на проростання насіння крес-салату (48год.)

Концентрація екстракту рослин	Кількість насінин, що проросли	Довжина рослин (мм.)	Зміна кольору	Кількість рослин, що загинули	Особливі відмітки
48 год.					
Зразок 1. _____					
<i>Контроль</i>					
Зразок 2. _____					
<i>Контроль</i>					

Зразок 3. _____					
<i>Контроль</i>					
Зразок 4. _____					
<i>Контроль</i>					
Зразок 5. _____					
<i>Контроль</i>					

2. Зробити висновки про алелопатію різних рослин

Висновки

Лабораторна робота №14

Вплив фітонцидів на мікроорганізми

Мета: Визначити вплив фітонцидів, ефірних олій на ріст і розвиток мікроорганізмів.

Хід роботи

1. На тверде поживне середовище висіяти різні штами мікроорганізмів.
2. Стерильні шматочки паперу змочити у різних ефірних оліях, сокові цибулі, часнику тощо та за допомогою стерильного пінцету рівномірно покласти на тверде поживне середовище у чашці Петрі (Рис 4).

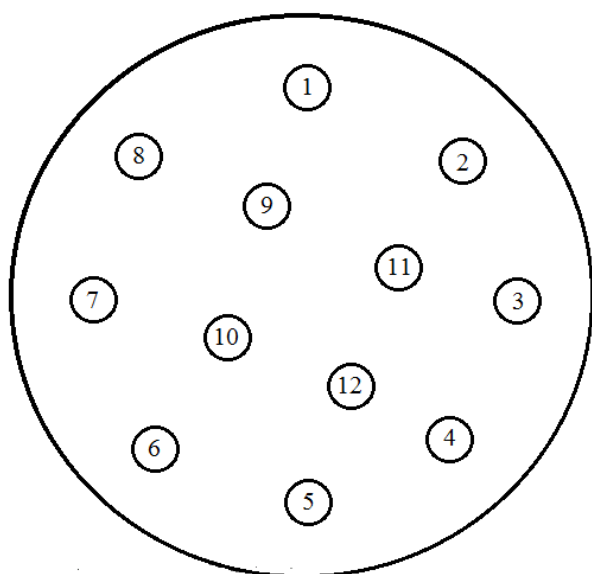


Рис. 4. Визначення впливу фітонцидів та ефірних олій на ріст і розвиток мікроорганізмів:

1 - _____

2 - _____

3 - _____

4 - _____

5 - _____

6 - _____

7 - _____

8 - _____

9 - _____

10 - _____

11 - _____

12 - _____

3. Чашку Петрі закрити кришкою і залишити на 1-2 доби у термостаті за температури +37°C.

4. Проаналізувати отримані дані. Зробити висновки, як різні ефірні олії, сік цибулі, часнику впливають на ріст і розвиток мікроорганізмів.

Висновки: _____

Лабораторна робота №15

Алелопатія рослин та просторова організація популяцій

Мета роботи: познайомитися із особливостями просторової структури популяції рослин, навчитися визначати характер просторового розподілу особин у популяції. Розвинути логічне мислення, спостережливість, вміння аналізувати, порівнювати, знаходити спільне та відмінне. Сприяти вихованню бережного ставлення до природи.

Матеріали, обладнання: зошит, ручка, олівець.

Теоретичні відомості. Просторова структура популяції – це характер розміщення і розподілу окремих членів популяції і їх угруповань на популяційній території (ареалі). У популяції реалізується **принцип територіальності**, індивіди різних популяцій можуть бути по-різному розподілені в просторі. Розрізняють три основних типи розподілу:

1) Випадкове – особини не схильні до яких-небудь стійких взаємодій, вони розподілені випадково. Випадково розподілені особини у більшості популяцій, якщо умови існування однорідні і досить сприятливі, а щільність популяції не дуже висока (А).

2) Регулярне – коли для особин в популяції характерні антагоністичні відносини, між ними діють сили відштовхування, тому, якщо середовище досить однорідне, розміщення особин є близьким до рівномірного (Б).

3) Групове – характерне, якщо в поведженні особин переважає тенденція до позитивних взаємодій, їхнє розміщення в однорідному середовищі може бути груповим (В). Крім того, груповий тип розподілу особин у просторі може бути викликаний нерівномірністю (гетерогенністю) самого середовища де вони перебувають.

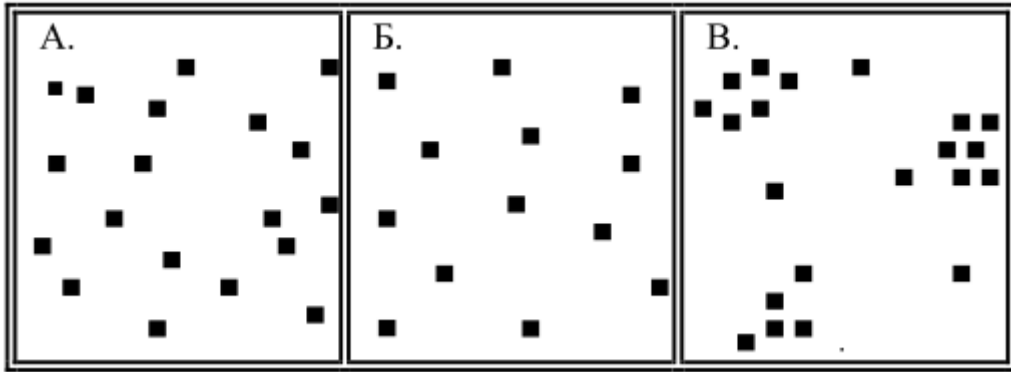


Рис.5 Типи розподілу рослин у просторі:

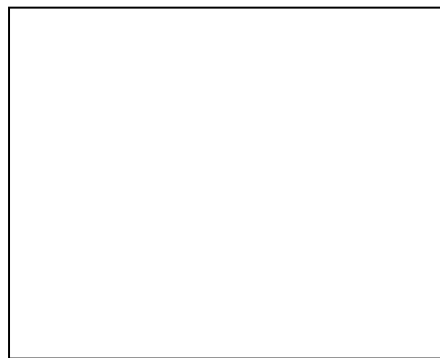
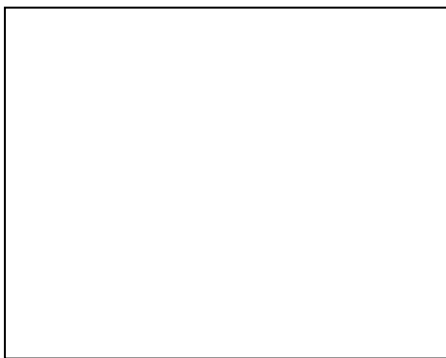
А – випадковий тип, Б – регулярний тип, В – груповий тип.

Суттєвий недолік багатьох методів оцінки характеру просторового розподілу особин полягає в допущенні того, що вибірка може бути набагато меншою, ніж утворені скупченнями особин плями. Очевидний вихід, що дозволяє нівелювати таке допущення полягає у використанні великої кількості невеликих вибірок (пробних ділянок).

Хід роботи

1. Вивчити видовий склад рослин дослідної ділянки.
2. Скласти карту-схему розміщення дослідних рослин на пробній ділянці. Користуючись схемами (Рис. 5) визначити характер просторового розподілу рослин на популяційній території (ареалі).

А) _____ Б) _____



Г) _____

Д) _____



3. Зробити висновки.

Висновки

ЛІТЕРАТУРА

1. Макрушин М.М., Макрушина Є.М., Петерсон Н.В., Мельников М.М. Фізіологія рослин. /За редакцією професора М.М.Макрушина. Підручник.- Вінниця: Нова Книга, 2006.- 416 с.
2. І.Ю. Фекета Фізіологія рослин. Методичні вказівки з дисципліни фізіологія рослин для студентів спеціальності 6.130400 - лісове господарство – Ужгород: Видавництво УжНУ «Говерла» , 2011. – 56 с.
3. Підручник «Фізіологія рослин» / М.М. Мусієнко, Т.В. Паршикова, Л.М. Бацманова // Укр. ботан. журн. — 2008. — Т. 65, № 5. — С. 775-780. — укр.
4. Фізіологія рослин: практикум / О.В. Войцехівська, А.В. Капустян, О.І. Косик та ін. За заг.ред. Т.В. Паршикової – Луцьк: Терен, 2010. – 420 с.

