



Харківський національний педагогічний університет імені Г. С. Сковороди
ФАКУЛЬТЕТ ПРИРОДНИЧОЇ, СПЕЦІАЛЬНОЇ І ЗДОРОВ'ЯЗБЕРЕЖУЮЧОЇ ОСВІТИ
КАФЕДРА БОТАНІКИ



Альбом для лабораторних занять з дисципліни **ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН**

студента _____

курс _____ група _____

Харків 2022

УДК 581.1(076)
Т 29

Рекомендовано до друку науково-методичною комісією факультету природничої,
спеціальної і здоров'язбережуючої освіти
Харківського національного педагогічного університету імені Г.С. Сковороди
(протокол №_ від __.__.2022 року)

Твердохліб О. В., Потапенко Г.С. Альбом для лабораторних занять з дисципліни «Фізіологія рослин». – Харків: ХНПУ, 2022 – 56 с.

Рецензенти:

Шаповалова О.В. – кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник, доцент кафедри мікробіології, вірусології та імунології Національного фармацевтичного університету.

Маркіна Т.Ю. – доктор біологічних наук, професор кафедри зоології Харківського національного педагогічного університету імені Г.С. Сковороди.

© Харківський національний педагогічний
університет імені Г.С. Сковороди, 2022
© Твердохліб О.В., Потапенко Г.С.

ПРАВИЛА БЕЗПЕКИ ПІД ЧАС РОБОТИ В ЛАБОРАТОРІЇ

Робота в хімічних та фізіолого-біохімічних лабораторіях у тій чи іншій мірі може загрожувати отруєнню працюючих хімічними реактивами, їхніми парами, а також на опіки концентрованими кислотами або лугами. В таких лабораторіях, унаслідок необережної поведінки з легкозаймистими речовинами, можна спричинити вибух чи пожежу. З огляду на це кожен студент має дотримуватися вимог основних правил безпеки праці.

1. До занять допускаються студенти в білих лабораторних халатах.
2. Забороняється тримати портфелі, сумки та інші сторонні предмети на лабораторних столах.
3. У лабораторії дозволено виконувати лише ті досліди, які передбачені календарним планом.
4. Усі прилади у лабораторії можна вмикати лише з дозволу викладача.
5. У приміщенні лабораторії слід підтримувати зразкову чистоту та порядок.
6. Заборонено пити з лабораторного посуду, а також вживати їжу в лабораторії. Забороняється вживати в їжу експериментальні об'єкти.
7. Відразу після закінчення роботи необхідно вимити посуд і розмістити його для просушування у спеціально відведеному для цього місці.
8. Після роботи студент зобов'язаний прибрати своє робоче місце і здати його черговому.
9. Усі роботи з леткими, отруйними речовинами потрібно проводити у витяжних шафах із ввімкненою тягою.
10. Під час роботи з легкозаймистими речовинами (ефіри, спирти, бензол, ацетон) слід бути особливо обережними. З ними потрібно працювати під тягою на відстані від відкритого вогню, нагрівати тільки на водяних банях.
11. Концентровані кислоти, луги, легкозаймісті речовини зберігають у закритому посуді далеко від відкритого полум'я, у витяжній шафі.
12. Луги, кислоти, інші їдкі та отруйні речовини не можна затягувати в піпетку ротом. Для цього користуються гумовими грушами або спеціальними пристроями.
13. Розбавляючи концентровані кислоти, особливо сірчану, їх слід вливати тонким струменем у воду (а не навпаки!), постійно помішуючи. Розчини кислот готують у фарфоровому або скляному термостійкому посуді.
14. При зважуванні твердих реактивів не можна насипати їх безпосередньо на чашку ваг. Негігроскопічні солі можна зважувати на пергаментному папері або у спеціальних чашках для зважування. Для зважування реактивів на аналітичних вагах використовують скляний посуд.
15. З метою уникнення забруднення реактивів не дозволяється набирати розчин з основного посуду піпеткою. Потрібну кількість розчину слід відлити у мірний циліндр або хімічний стакан. Надлишок, що залишився, не виливають в основний посуд.
16. Наливаючи реактиви, не можна нахилитися над посудом, щоб бризки не потрапили на обличчя та одяг.
17. Нагріваючи хімічний посуд з розчинами, не слід спрямовувати їхній отвір на себе чи колег.
18. Щоб визначити запах речовини, струмінь повітря спрямовують легким порухом долоні в напрямку до себе, водночас не потрібно вдихати повітря на повні груди.
19. Заборонено виливати в раковину залишки лугів, кислот, легкозаймистих рідин, викидати туди тверді речовини (папір, пісок, сірники тощо).
20. Не можна запалювати газ поряд із робочим місцем сусіда, попередньо не з'ясувавши з чим він працює.

Зміст

№ л.р	Тема	Сторінка
1	Плазмоліз і деплазмоліз в рослинних клітинах. Визначення в'язкості цитоплазми	5
2	Визначення осмотичного тиску клітинного соку плазмолітичним методом.	10
3	Визначення сисної сили клітин спрощеним способом	13
4	Визначення інтенсивності транспірації та відносної транспірації ваговим методом	15
5	Визначення ступеня відкриття продохів методом інфільтрації. Визначення кількості продохів за допомогою відбитків.	18
6	Отримання спиртової витяжки пігментів та розділення їх різними методами	21
7	Оптичні властивості пігментів фотосинтезу	26
8	Вивчення фотосенсибілізуєчих властивостей хлорофілу	28
9	Вплив зовнішніх умов на інтенсивність фотосинтезу водної рослини	30
10	Кількісне визначення хлорофілу в листках (хвої) фотоколориметричним методом	34
11	Мікрохімічний аналіз золи	37
12	Визначення вмісту нітратів у рослинних об'єктах	40
13	Визначення коефіцієнта дихання насіння, що проростає	43
14	Перетворення речовин під час проростання насіння	45
15	Визначення енергії та схожості насіння сільськогосподарських культур	47
16	Періодичність росту рослин	50

Виконані самостійні роботи необхідно надсилати на електронну скриньку
Потапенко Г.С або Твердохліб О.В, або закріплювати у форматі pdf на платформі Moodle



Плазмоліз і деплазмоліз в рослинних клітинах. Визначення Дата _____ в'язкості цитоплазми

Матеріали, обладнання, об'єкт роботи: 1 М розчини плазмолітиків (NaCl або сахароза), 1 М KNO_3 , 0,7 М $Ca(NO_3)_2$, мікроскоп, предметні та накривні скельця, препарувальні голки, скляні палички, скальпель, епідерміс синьої цибулі, листки елодеї, ємність з дистильованою водою, фільтрувальний папір, пінцет, листки елодеї.

Теоретичні засади роботи

Стан води у рослинній клітині характеризується рухомістю її молекул (трансляційною, обертово-коливальною), числом та енергією водневих зв'язків. Можливості взаємодії води з неводними компонентами розширюються. Мембрани містять 25–30 % води, причому вона зв'язана не лише з білками, а й з полярними частинами ліпідів. У формуванні мембран вода відіграє структуроутворювальну роль. Це свідчить про те, що орієнтовані ліпідні міцели утворюються лише у її присутності в результаті гідрофобних взаємодій неполярних частин молекул.

Наочним проявом осмотичних і життєздатних властивостей рослинних клітин є властиве їм явище плазмолізу та деплазмолізу. Плазмоліз можна спричинити, помістивши клітини в гіпертонічний розчин, тобто розчин, концентрація якого більша, ніж концентрація вакуолярного соку. Внаслідок цього більш концентрований зовнішній розчин відбирає воду від вакуолі, об'єм якої зменшується, і шар цитоплазми, що був притиснутий вакуолею до оболонки, відстає від неї.

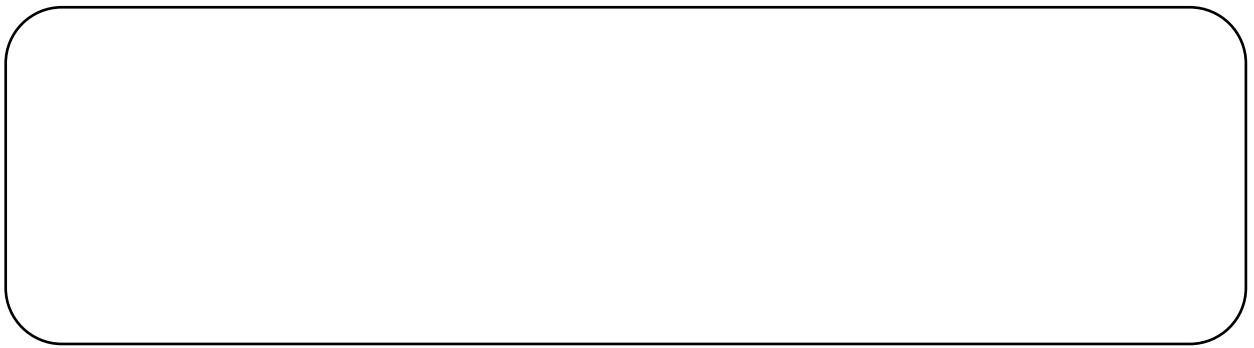
В'язкість, або внутрішнє тертя – це сила, яка потрібна для переміщення одного шару рідини відносно іншого. В'язкість зумовлюється зчепленням молекул рідини між собою та опором структурних компонентів клітини. В'язкість цитоплазми має велике значення для виживання рослин за стресових умов: високих та низьких температур.

Хід роботи

1. **Спостереження явища плазмолізу.** З луски цибулі або листка традесканції знімають пінцетом шматочки забарвленої епідерми і швидко кладуть у краплину відстояної водопровідної води на предметному склі та накривають накривним скельцем. На малому збільшенні знаходять місця препарату, де клітини найкраще забарвлені і не деформовані. Замальовують форму і стан кількох типових клітин. Після цього смужкою фільтрувального паперу відтягують з-під накривного скельця воду, а з протилежного боку наносять краплину 1 М розчину сахарози або NaCl, який і замінює воду. За кілька хв. буде видно, як в зафарбованих клітинах цитоплазма починає відставати від оболонки (насамперед в кутах клітини). Поступово таке відставання збільшується, поки весь протопласт не перетвориться на кулясте утворення в центрі або біля однієї з оболонок клітини.

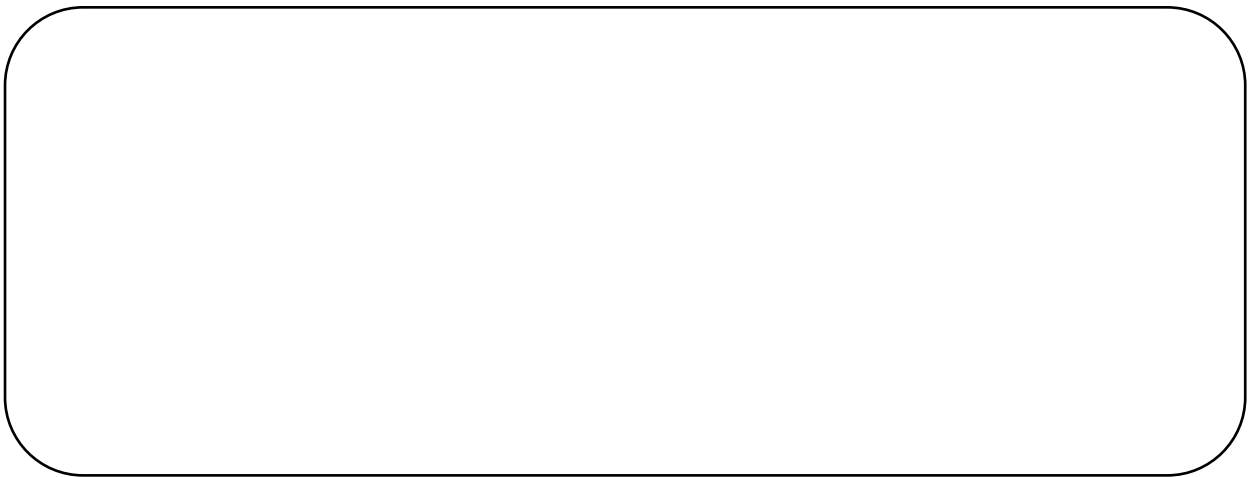
За певних умов освітлення препарату та стану цитоплазми на початковій фазі плазмолізу можна спостерігати тоненькі тяжі її, що тягнуться від поверхні протопласта до пор в оболонці. Це так звані плазмодесмові нитки (нитки Гехта), які свідчать про в'язкість та еластичність цитоплазми. Залежно від цього виникають різні форми плазмолізу: опуклий, увігнутий, судорожний, ковпачковий.

На форму плазмолізу впливають також іони плазмолітика. Важливо, що здатність клітини до плазмолізу є достовірним показником життєздатності її і структурно-функціональної цілісності. Замалюйте поступові фази плазмолізу кількох тих самих клітин



2. **Спостереження явища деплазмолізу.** Через деякий час в зв'язку з тим, що цитоплазматичні мембрани пропускають не тільки воду, а й деякі речовини, в вакуолях підвищується концентрація клітинного соку. Тоді клітина розпочинає осмотично поглинати воду. Об'єм плазмолізованого протопласта поступово збільшується, цитоплазма наближається до оболонки. Так відбувається **деплазмоліз**. За швидкістю деплазмолізу роблять висновок про швидкість проникнення у вакуолі різних речовин.

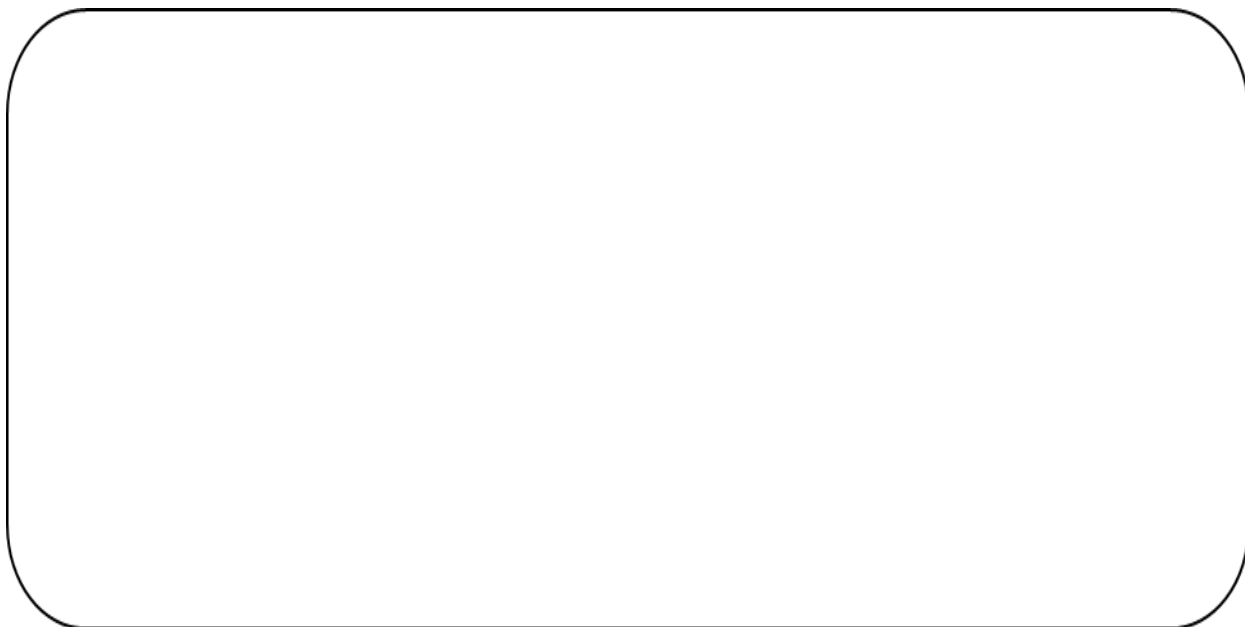
Деплазмоліз істотно прискорюється при заміні плазмолітика на воду. Для цього розчин з-під скельця відтягують смужкою фільтрувального паперу та додають краплю дистильованої води. Замалюйте поступові стадії деплазмолізу



3. Визначення в'язкості цитоплазми за часом плазмолізу

Проміжок часу, який проходить від занурення об'єкта в розчин плазмолітика до появи опуклого плазмолізу, називають **часом плазмолізу**. Чим менше в'язкість, тим швидше настає опуклий плазмоліз.

Взяти 2–3 листочки елодеї, занурити у краплину розчину сахарози на предметному склі та накрити скельцем. В іншу краплю розчину сахарози помістити зріз епідермісу синьої цибулі. Розглядаючи препарати під мікроскопом через кожну хв., визначити час плазмолізу, причому у листка елодеї спостереження слід вести за клітинами різних зон. Замалюйте фази плазмолізу різних об'єктів досліджень.



Порівняти в'язкість цитоплазми у клітин різних об'єктів.

Час спостереження, хв.	Об'єкт дослідження	
	Елодея	Цибуля
1 хв.		
2 хв.		
3 хв.		
4 хв.		
5 хв.		
6 хв.		

4. Визначення впливу іонів K^+ та Ca^{2+} на в'язкість цитоплазми

На предметне скло нанести по краплі розчинів 1М KNO_3 , 0,7 М $Ca(NO_3)_2$. Занурити у розчини зрізи епідермісу синьої цибулі та накрити їх скельцями. Визначити час плазмолізу. Порівняти в'язкість цитоплазми у клітин цибулі в розчинах різних плазмолітиків. Замалювати результати спостережень. Зробити висновки відносно впливу іонів K^+ та Ca^{2+} на в'язкість цитоплазми.

Час спостереження, хв	Розчин	
	KNO_3	$Ca(NO_3)_2$
2 хв.		

4 хв.		
6 хв.		
8 хв.		
10 хв.		

Висновки: _____

Завдання для самостійної роботи:

Заповнити таблицю: «Функції структурних елементів рослинної клітини»

Складові рослинної клітини	Функції
Клітинна стінка	
Цитозоль	
Цитоскелет	

Ядро	
Рибосоми	
Пластиди	
Мітохондрії	
ЕПР	
Апарат Гольджі	

Контрольні запитання:

1. Чому плазмоліз спостерігається тільки в живих клітинах?
2. Яка із цитоплазматичних мембран, плазмалема чи тонопласт, більш проникна для іонів?
3. Чим можна пояснити різну в'язкість цитоплазми клітин елодеї та цибулі?
4. Шматочки епідермісу цибулі були витримані протягом декількох годин в гіпотонічних розчинах KNO_3 та $Ca(NO_3)_2$, а потім перенесені у гіпертонічний розчин сахарози. В якому з вказаних розчинів досліду буде спостерігатись більш швидкий перехід від ввігнутого плазмолізу до опуклого? З чим це пов'язане?
5. Два шматочки епідерми синьої цибулі (відповідно з живими та вбитими при нагріванні клітинами) занурили в гіпертонічний розчин сахарози. Що спостерігатиметься і чому?
6. При розгляданні в мікроскоп зрізів однієї і тієї ж рослинної тканини, які були занурені в гіпертонічні розчини сахарози та сечовини, виявилось, що розчин сахарози викликав стійкий плазмоліз, який зберігався протягом тривалого часу, тоді як в розчині сечовини плазмоліз змінився деплазмолізом. Як пояснити ці результати?
7. Чому у рослин, що зростають в умовах жаркого та сухого клімату, в'язкість цитоплазми, як правило, вища, ніж у мезофітів?

Матеріали, обладнання, об'єкт роботи: 1М розчин NaCl або сахарози, дистильована вода, піпетки на 5 мл (2 шт.), пробірки в штативах або пронумеровані пеніцилінові баночки (7 шт.), воронки, олівці по склу, леза, фільтрувальний папір, мікроскопи, предметні скельця, накривні скельця, препарувальні голки, скляні палички, 1 термометр (на столі у викладача), епідерміс синьої цибулі, листки елодеї.

Теоретичні засади роботи

Наявність у клітинах мембран з вибіркою проникністю, а саме – плазмалеми і тонопласту, є перешкодою для деяких речовин, ускладнює процеси дифузії. Стосовно води, у цьому випадку, говорять про особливий вид дифузії – осмос. Осмос (від грецьк. *ōsmos* – поштовх, тиск) – це одnobічна дифузія молекул води через напівпроникну мембрану з ділянки з низькою концентрацією розчиненої речовини в ділянки з більшою концентрацією. Осмос обумовлений прагненням системи до термодинамічної рівноваги і вирівнювання концентрацій розчину з обох сторін мембрани. Таким чином, будь-яка осмотична система припускає наявність мембрани, проникної у першу чергу для молекул води (розчинника і двох розчинів різної концентрації, розділених цією мембраною). Розчин з більшою концентрацією стосовно розчину з меншою концентрацією є **гіпертонічним**, а розчин з меншою концентрацією стосовно розчину з більшою концентрацією розчиненої речовини – **гіпотонічним**. У цих умовах буде спостерігатися реальне переміщення молекул води через мембрану з гіпотонічного розчину в гіпертонічний шляхом осмосу. Це відбувається доти, доки не наступить рівновага, і розчини стануть **ізотонічними** (рівними за концентрацією).

Осмос характеризується **осмотичним тиском (P)** – це такий гідростатичний тиск, який потрібно прикласти до розчину з більшою концентрацією, щоб запобігти осмотичному надходженню в нього води. Чим вища концентрація розчину, тим вищий його осмотичний тиск.

Концентрацію клітинного соку, який являє собою розчин великої кількості різноманітних органічних і неорганічних сполук, можна визначити за його осмотичним потенціалом. Плазмолітичний метод визначення цього важливого цитофізіологічного показника полягає в тому, що зрізи досліджуваної тканини занурюють у розчини різних концентрацій і згодом проводять дослідження під мікроскопом для виявлення ізотонічного розчину.

Виходячи з того, що плазмоліз відбувається лише в гіпертонічних розчинах, знаходять таку концентрацію, в якій спостерігається початкова стадія плазмолізу не менше ніж у 50% клітин досліджуваної тканини. Ізотонічний розчин матиме середнє значення між цим розчином і наступним (менш концентрованим), в якому плазмоліз ще не відбувається.

Хід роботи

1. Приготування розчинів різної концентрації

Приготувати по 5 мл розчинів NaCl або сахарози концентрацією від 0,1 до 0,7 моль/л змішуванням відповідних об'ємів вихідного 1 М розчину і води згідно з таблицею. Розчини зберігають в пронумерованих маленьких ємностях.

Концентрація плазмолітика, моль/л	На 5 мл розчину беруть	
	1 М розчину NaCl (сахарози), мл	води, 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

2. Визначення осмотичного тиску клітинного соку.

Взяти по 5 мл розчинів NaCl або сахарози серії концентрацій від 0,1 до 0,7 моль/л.

Лезом безпечної бритви виготовляють 14 тонких зрізів з опуклої сторони синьої цибулі, з листків червоноголової капусти або інших об'єктів. Зрізи занурюють на 1–2 хв. в охолоджену кип'ячену воду для видалення бульбашок повітря і поступово, Потім виймають, обсушують на фільтрувальному папері і занурюють по 2 зрізи в кожний приготовлений розчин з інтервалом в 2–3 хв.

Через 20-30 хв препарати розглядають під мікроскопом у тій самій послідовності. На предметне скло замість води наносять краплину плазмолітика, в якому знаходився препарат.

Послідовно переглядаючи препарати з усіх розчинів, встановлюють, при якій концентрації помітно початкову стадію плазмолізу, а при якій ні. Результати записують у графі таблиці.

Заповнити таблицю за результатами спостережень

№ ємності	Концентрація плазмолітика, моль/л	Стадія плазмолізу	Ізотонічний/гіпертонічний/гіпотонічний
1	0,1		
2	0,2		
3	0,3		
4	0,4		
5	0,5		
6	0,6		
7	0,7		

Осмотичний тиск клітинного соку визначають за рівнянням Вант-Гоффа:

$$P = RTCi, \text{ де:}$$

P – осмотичний тиск в мегапаскалях, МПа;

R – універсальна газова стала, 0,0083 кДж/(град·моль);

T – абсолютна температура, 273 + t C;

C – концентрація, Моль/л;

i – ізотонічний коефіцієнт.

Для неелектролітів (сахароза) $i=1$, а для розчинів електроліту **NaCl** він має такі значення:

Концентрація, 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	1,7	1,75	1,78	1,83

Обчислити осмотичний тиск клітинного соку _____

Контрольні запитання:

1. Знайти осмотичний тиск 0,2М розчину хлористого калію при 0°C. Ізотонічний коефіцієнт даного розчину дорівнює 1,8.
2. Молярні розчини KCl та CaCl₂ розділені напівпроникною мембраною. В бік якого розчину буде пересуватися вода?
3. Чому дорівнює осмотичний тиск клітинного соку при 17°C, якщо відомо, що ізотонічний для даної клітини розчин сахарози має концентрацію 0,3М?
4. У клітинах яких рослин більше осмотичний тиск клітинного соку: у тих, що зростають на солончаках, чи у рослин незасолених ґрунтів? У тих, що виростили у тінистих вологих місцях, чи у тих, що ростуть у степу? Як пояснити цю різницю?
5. Клітину, осмотичний тиск клітинного соку якої становить 5 атм, помістили у розчин хлористого калію з осмотичним тиском 10 атм. Що відбудеться з клітиною? Відповідь поясніть.
6. Шматочки однієї і тієї ж рослинної клітини занурені у 1М розчин сахарози і 1М розчин хлористого натрію. В якому з названих розчинів буде спостерігатись більш виражений плазмоліз? Як це пояснити?
7. Чому дорівнює осмотичний тиск децимолярного розчину глюкози при 20° С?
8. Розчини, які мають осмотичний тиск 8 та 9 атм, викликали плазмоліз клітин тканини, що досліджувалась, а в розчинах, осмотичний тиск яких був 6 та 7 атм, плазмоліз не спостерігався. Чому дорівнює осмотичний тиск клітинного соку?
9. Знайти осмотичний тиск клітинного соку при 17°C, якщо відомо, що 0,3 та 0,4 М розчини сахарози плазмолізу клітини не викликають, а в 0,5 М розчині спостерігається плазмоліз.
10. 0,3М розчин сахарози, 0,15М розчин KCl та 0,1М розчин CaCl₂ мають приблизно однаковий осмотичний тиск. Чому?

Матеріали, обладнання, об'єкт роботи: 1М розчин NaCl або сахарози, дистильована вода, піпетки на 5 мл (2 шт.), пробірки в штативах або пронумеровані пеніцилінові баночки (7 шт.), скальпель, пінцет, олівці по склу, леза, фільтрувальний папір, препарувальні голки, 1 термометр (на столі у викладача), ніж, тарілка, кришки чашки Петрі (7 шт.), шматок скла з прямими кутами, смужки міліметрового паперу 11×10 см, бульби картоплі.

Теоретичні засади роботи

Сисна сила (S) – це сила, з якою вода надходить у клітину, вона обчислюється як різниця між осмотичним (P) і тургорним (T) тиском ($S = P - T$). Якщо осмотичний тиск більший, ніж тургорний, клітина поглинає воду. При зануренні шматочка дослідної тканини у розчин, що має сисну силу більше сисної сили клітин, розчин віднімає воду з клітин і розміри шматка зменшуються. Якщо сисна сила клітин більше сисної сили розчину, то клітини всмоктують воду і збільшуються в об'ємі. При рівності сисної сили клітини залишаються без змін.

Хід роботи

Приготувати по 10 мл розчинів NaCl концентрацією від 0,1 до 1,0 моль/л змішуванням відповідних об'ємів вихідного 1 М розчину і води згідно з таблицею.

Концентрація плазмолітика, моль/л	На 10 мл розчину беруть	
	1 М розчину (NaCl) сахарози, мл	води, мл
0,1	1,0	9,0
0,2	2,0	8,0
0,4	4,0	6,0
0,6	6,0	4,0
0,8	8,0	2,0
1,0	10,0	0,0

Зрізати з картоплі пластинку товщиною 3–4 мм (різати упоперек бульби) і вирізати прямокутник 40×60 мм. Після чого розрізати цей прямокутник вздовж на декілька смужок, шириною 2–3 мм, використовуючи прямокутне скло. Виміряти довжину смужок робити треба швидко, щоб не дати зів'янути препарату на тарілці з водою. Сік з бульби прибрати фільтрувальним папером. Занурити по одній смужці у розчин кожної концентрації. Через 30 хв. провести повторне вимірювання смужки.

Заповнити таблицю на основі проведених спостережень

Концентрація NaCl	1,0	0,8	0,6	0,4	0,2	0,1	0
Вихідна довжина смужки, мм							
Довжина смужки через 30 хв., мм							
Різниця, мм							
Тургор							

Висновок							
----------	--	--	--	--	--	--	--

Дані для «Різниці» одержати шляхом віднімання від більшої величини меншої, позначити знаком «+», зменшення знаком «-». В останньому рядку «Висновок» порівняти сисну силу клітини з сисною силою розчину ($S_1 \leq, \geq S_2$)

Зробити висновки, пояснивши причини зміни довжини смужок, і знайти сисну силу клітин перед зануренням їх у розчини, розрахувавши осмотичний тиск ізотонічного розчину за формулою Вант-Гоффа

Висновки

Контрольні запитання:

1. Чому дорівнює сисна сила клітини та тургорний тиск: а) при повному насиченні клітини водою, б) при плазмолізі, в) при циторізі?
2. Клітина знаходиться в стані повного насичення водою. Осмотичний тиск клітинного соку дорівнює 8 атм. Чому дорівнює сисна сила та тургорний тиск цієї клітини?
3. Клітина знаходиться в стані в'янення (початкового плазмолізу). Чому дорівнює осмотичний тиск клітинного соку та тургорний тиск цієї клітини, якщо відомо, що всисна сила цієї клітини дорівнює 5 кПа?
4. Клітина занурена в 0,3 М розчин сахарози. Куди піде вода, якщо відомо, що осмотичний тиск клітинного соку дорівнює 10 атм, тургорний тиск - 8 атм, а температура розчину – 15°C?
5. Клітина, яка має осмотичний тиск клітинного соку 12 атм, занурена в ізотонічний розчин. Що станеться з клітиною? (Розберіть два можливих випадки.)
6. Клітина занурена у гіпотонічний розчин. Осмотичний тиск клітинного соку дорівнює 7 атм, зовнішнього розчину – 5 атм. Куди піде вода? (Розберіть три можливих випадки.)
7. Шматочки однієї і тієї ж рослинної тканини занурені у ряд розчинів, осмотичний тиск яких дорівнює 5, 7, 10, 12, 16, 18, та 20 атм. Клітини цієї тканини перед зануренням у розчини мали тургорний тиск 6 атм, а осмотичний тиск клітинного соку – 16 атм. В яких розчинах: а) клітини будуть поглинати воду, б) клітини будуть віддавати воду, в) буде спостерігатись плазмоліз клітин?
8. Шматочки бульби картоплі були виміряні та занурені на 30 хв в розчини NaCl різної концентрації. Виявилося, що в 0,2 М розчині довжина шматочка не змінилася, в 0,3 М розчині зменшилась, а в 0,1 М розчині збільшилась. Як пояснити отримані результати?
9. Чому дорівнює всисна сила клітин, якщо відомо, що при зануренні в 0,3М розчин сахарози розміри клітин збільшились, а в 0,4М розчині залишились без змін? Дослід проводився при температурі 27°C.
10. Дві живі клітини симпластно контактують між собою. В якому напрямку рухатиметься вода, якщо у першій клітини осмотичний тиск клітинного соку дорівнює 10 атм та тургорний тиск - 6 атм, а у другій клітини відповідні показники складають 15 та 12 атм? Поясніть.

Визначення інтенсивності транспірації та відносної транспірації ваговим методом

Матеріали, обладнання, об'єкт роботи: лабораторні терези, чашки Петрі, олія рослинна, звичайний і міліметровий папір, лінійки, ножиці, листки кімнатних чи дослідних рослин.

Теоретичні засади роботи

Транспірація вимірюється кількістю випаруваної води одиницею листової поверхні за одиницю часу. Величина транспірації змінюється протягом доби в межах $10\text{--}300 \text{ г/м}^{-2} \text{ год}^{-1}$.

Характеризують транспірацію такі показники:

інтенсивність транспірації – відносна кількість води, яка випаровується з одиниці листової поверхні за певний час г/м^2 за год.;

продуктивність транспірації – кількість сухої речовини, утвореної рослиною на 1 кг випаруваної води;

транспіраційний коефіцієнт – кількість води, витраченої рослиною на побудову одиниці маси сухої речовини;

відносна транспірація – це відношення інтенсивності транспірації до інтенсивності евапорації – випаровування з одиниці площі вільної водної поверхні за одиницю часу. Показник відносної транспірації характеризує здатність рослин регулювати транспірацію і становить в середньому $0,1\text{--}0,5$, досягаючи 1, а у добре захищених від втрати води рослин дорівнює $0,01$ і менше.

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

Хід роботи

В пробірку наливають воду, в яку занурюють черешок листка (гілку). Попередньо зрізи поновлюють під водою з метою видалення з трахей і трахеїд повітря. На поверхню води в пробірці наносять 1–2 краплини рослинної олії і зважують пробірку з рослиною з точністю третього знаку. Через 1 годину повторно зважують і визначають кількість випаруваної води. Щоб отримати величину інтенсивності транспірації, слід розділити кількість випаруваної води в грамах на поверхню листової пластинки в см^2 . Щоб визначити поверхню листка, вирізають квадрат паперу розміром $10 \times 10 \text{ см}$ і зважують. Папір повинен бути рівномірним за щільністю. На цей квадрат накладають листок, який був у досліді, і гострим олівцем обводять його контур. Вирізають контур листка, встановлюють його масу і вираховують площу за пропорцією. Поверхню листка ще простіше визначити після нанесення його контуру на міліметровий папір.

Інтенсивність транспірації T (в $\text{г/м}^{-2} \text{ год}^{-1}$) обчислюють за формулою

$$T = \frac{10000 \cdot C \cdot 60}{St}, \text{ де}$$

C – кількість випаруваної води за 1 годину, г;

t – тривалість досліду, хв.;

S – площа листка, см^2 .

1. **Визначення інтенсивності транспірації.** Порівняти різні види рослин, зробити висновки про їх здатність регулювати транспірацію. Занести результати дослідження транспірації до таблиці.

Варіанти дослідів	Транспірація				Інтенсивність транспірації, (Т), г. м ⁻² год ⁻¹
	маса пробірки з листком, г		випарувалось води, г	площа листка, см ²	
	на початку дослідів	в кінці дослідів			

2. **Визначення інтенсивності евапорації.** Паралельно в тих самих умовах визначають інтенсивність випаровування води з вільної поверхні (Е). Для цього встановлюють кількість випарованої води за 1 годину з поверхні чашки Петрі. Площу поверхні чашки Петрі підраховують за формулою

$$S = \pi r^2$$

Розраховують Е за формулою інтенсивності транспірації,

Занести результати дослідження евапорації до таблиці та обчислити відносну транспірацію ВТ

$$ВТ = Т/Е.$$

Варіанти дослідів	Випаровування з поверхні чашки Петрі				Інтенсивність евапорації, (Е) г/м ⁻² год ⁻¹	ВТ
	маса чашки Петрі з водою, г		втрата води, г	площа поверхні, см ²		
	на початку дослідів	в кінці дослідів				

Розрахунки _____

Висновки: _____

Контрольні запитання:

1. Чому при збільшенні тургору замикаючих клітин відбувається відкриття продигових щілин?
2. Концентрація іонів калію в замикаючих клітинах продигов збільшується на світлі в 4-5 разів. Яка причина цього явища?
3. Пагін, який зважили відразу після зрізання, мав вагу 10,28 г, а через 3 хвилини – 10,15 г. Площа листків пагона складала 240 см^2 . Визначити інтенсивність транспірації.
4. Дерево, яке мало листову поверхню 11 м^2 , випарувало за 3 години 4,5 кг води. Чому дорівнює інтенсивність транспірації?
5. Яку кількість води випарить рослина за 5 хв, якщо інтенсивність транспірації її становить $125 \text{ г/м}^2 \cdot \text{год}$, а поверхня листків – 240 см^2 ?
6. Пагін з листовою поверхнею $1,3 \text{ дм}^2$ випарив за 6 хв 0,09 г води. За тих саме умов з вільної водної поверхні площею 20 см^2 за 2 год випарилося 0,6 г води. Визначити відносну транспірацію.
7. За вегетаційний період рослини накопичили 2,1 кг органічної речовини та випарили за цей час 535 кг води. Визначити продуктивність транспірації.
8. Чому дорівнює транспіраційний коефіцієнт дерева, яке за вегетаційний період випарило 2 т води та накопичило за цей час 10 кг сухої речовини?
9. Знайти продуктивність транспірації, якщо транспіраційний коефіцієнт складає 130 мл/г.
10. Як пояснити в'янення листків жаркого літнього дня при достатній кількості вологи в ґрунті та ліквідацію водного дефіциту вночі?
11. Як пояснити “плач” берези при пораненні стовбура ранньою весною та відсутність цього явища влітку?

Матеріали, та обладнання, об'єкт роботи: пінцет, дистильована вода, фільтрувальний папір, мікроскоп, предметні та покривні скельця, спирт, ксилол, бензол, скляна паличка, лак для нігтів, листки кімнатних рослин: бегонія, фуксія, аспідістра, хлорофітум.

Теоретичні засади роботи

Продихи – щілини, що утворені двома замикаючими, або продиховими, клітинами. Продихові клітини дрібні, зелені, парні і мають підковоподібну форму. Оболонки цих клітин потовщені нерівномірно: внутрішня, звернена до щілини, товща, ніж протилежна. Зміни тургору (напруження) продихових клітин змінюють їхню форму, завдяки чому продихова щілина буває відкритою, звуженою або повністю закритою від умов навколишнього середовища. Так, вдень продихи відкриті, а вночі і в жарку суху погоду – закриті. Завдяки випаровуванню навколо рослини створюється особливий мікроклімат, необхідний для її нормальної життєдіяльності рослин. Транспірація захищає листки від перегрівання. До того ж випаровування сприяє надходженню нової кількості води в корінь і підняттю її по стеблу до листків, підтримуючи тим самим постійний рух води по рослині.

Продихи розташовуються зазвичай на нижньому боці листка (щоб не засмічуватися та щоб не випаровувалася на сонці зайва волога), але бувають і на верхньому, іноді вони розподілені більш-менш рівномірно по обидва боки (кукурудза), у водних рослин – лише на верхній поверхні листка. Кількість продихів на одиницю площі листка залежить від виду рослин, умов зростання. В середньому їх 100 – 300 на 1 мм² поверхні, але може бути значно більше.

Міжклітинники листка заповнені у звичайному стані повітрям, тому лист при розгляданні його на світлі уявляється нам матовим. Якщо міжклітинники заповнюються рідиною, то ці ділянки листка стають прозорими. Визначення стану продихів методом інфільтрації засновано на здатності рідин проникати через продихи в міжклітинні проміжки і витискувати з них повітря. В цьому легко переконатися по появі на листі жирних плям. Різні рідини здатні проходити через продихи з різним ступенем відкриття. Ксилол легко проходить через слабо відкриті продихи, бензол - через середньовідкриті, етиловий спирт - через широко відкриті продихи.

Хід роботи

1. Визначення кількості продихів за Г.Х. Молотковським.

На нижню частину листка скляною паличкою наносять лак тонким шаром. Після висихання взяти плівку лаку пінцетом і помістити на предметне скло у краплю води. Розглянути при малому збільшенні у краплі води. Порахувати у 10 полях зору кількість продихів і знайти їх середнє число, що приходить на одне поле зору. Порівняти відбитки з верхньої поверхні листка та нижньої.

Із таблиці визначити площу поля зору. Розрахувати кількість продихів на 1 мм². Найкращим об'єктом для вивчення продихів є бегонія.

Розрахунки _____

Таблиця 1. Визначення площі поля зору

Збільшення	Діаметр поля зору, мм	Площа зору, мм ²
8x7	2,25	3,974
8x10	1,75	2,404
8x15	1	0,785
40x7	0,46	0,158
40x10	0,36	0,0981
40x15	0,20	0,0314

2. Визначити стан продохів кімнатних рослин методом інфільтрації

На ділянки нижньої сторони листа, розділені жилками, скляною паличкою або піпеткою окремо нанести три рідини (спирт, ксилол, бензин). Якщо крапля рідини зникає, але колір листа не змінюється, значить, рідина просто випарувалася. Зміна забарвлення на місці нанесення краплі реактиву свідчить про інфільтрацію рідини.

Заповнити таблицю за результатами спостережень.

Назва рослини	Ксилол	Бензол	Спирт	Ступінь відкриття продохів

На підставі отриманих результатів зробити висновок про ступінь відкриття продохів у рослинних об'єктів.

Висновки: _____

Контрольні запитання:

1. На нижню поверхню листків ліщини у різний час ясного літнього дня наносили краплі ксилолу, бензолу та етилового спирту. При цьому встановили, що о 5 годині ранку вказані рідини не залишили на листку жодного сліду, о 7 годині залишились плями від ксилолу та бензолу, о 9 годині плями залишили всі три рідини, а о 13 годині плями не виявилися. Як пояснити ці результати?
2. Інгібітор росту абсцизова кислота пригнічує біосинтез гідролітичних ферментів та негативно впливає на рівень вмісту АТФ у рослинних тканинах. Як зміниться стан продихів у рослин після обприскування їх розчином абсцизової кислоти?
3. Як пояснити, що при загальній невеликій площі продихових отворів (біля 1% площі листків) інтенсивність транспірації при сприятливих умовах водопостачання рослин наближається до інтенсивності евапорації (випаровування з вільної водної поверхні)?
4. Чому при збільшенні тургору замикаючих клітин відбувається відкриття продихових щілин?
5. У одного з двох однакових листків плюща змазали нижній бік шаром вазеліну, після чого визначили інтенсивність транспірації, яка виявилась у обробленого листка в 10 разів менше, ніж у контрольного. Зробіть висновок на підставі наведених результатів.
6. Концентрація іонів калію в замикаючих клітинах продихів збільшується на світлі в 4-5 разів. Яка причина цього явища?

Отримання спиртової витяжки пігментів та розділення їх різними методами

Матеріали, обладнання, об'єкт роботи: свіжі або сухі листки рослини, спирт 96%, ступка фарфорова, пробірки, воронка, ножиці, фільтрувальний папір, таблетки КОН, 10% соляна кислота, оцтово-кислий цинк $[Zn(CH_3COO)_2]$, скляна паличка, спиртівка, сірники, бензин, олівці, ацетон, спирт, смуга фільтрувального паперу для хроматографії (довжина 20 см, ширина – 1 см), зелені листки дослідних рослин (хлорофітум, гібіскус).

Теоретичні засади роботи

Основні пігменти фотосинтезу – хлорофіли, каротиноїди і фікобіліни. Хлорофіли за своєю природою є Mg-порфіринами. У хлоропластах вищих рослин містяться дві форми хлорофілів – а і b. Порфіринове кільце хлорофілу поглинає червоні та синьо-фіолетові промені, пропускаючи значну частину зелених. Цим пояснюється зелений колір хлорофілу. Молекули хлорофілів входять в реакційні центри і беруть участь у перетворенні світлової енергії. Каротиноїди – велика група пігментів жовтого, оранжевого, червоного кольору. За хімічною будовою вони поділяються на каротини, що містять тільки вуглець і водень, і ксантофіли, які містять ще і кисень. Фікобіліни – водорозчинні пігменти червоного або блакитного кольору, за хімічною природою близькі до порфіринів, але не містять атомів металу. Вони поглинають світлову енергію в зеленій і жовтій областях і входять в пігментний апарат ціанобактерій і червоних водоростей.

У процесі фотосинтезу хлорофіли виконують складні функції: поглинання світла, передачу енергії, передачу електронів. За хімічною природою хлорофіл – складний ефір дикарбонової хлорофілінової кислоти, який отримують етерифікацією карбоксильних груп двома спиртами – метиловим і фітолом. Наявність атома Mg²⁺ у ядрі хлорофілу обумовлює зелений колір пігменту.

Хід роботи

1. Одержання спиртової витяжки пігментів зеленого листка

Свіжі листки будь-якої рослини дрібно порізати ножицями і розтерти в фарфоровій ступці в зелену масу. Для кращого розтирання листків можна додати невелику кількість кварцового піску і чистого етилового спирту. До розтертої маси прилити чистого етилового спирту і обережно продовжувати розтирання, поки спирт не зафарбується в інтенсивно зелений колір. Одержану спиртову витяжку відфільтрувати через сухий фільтр в суху пробірку.

2. Розділення пігментів спиртової витяжки листка за методом Крауса.

Метод Крауса заснований на тому, що різні пігменти по різному розчиняються в різних розчинниках. При цьому треба врахувати, що ксантофіл майже нерозчинний в бензині. Хлорофіл і каротин добре розчиняються в бензині. Він складається з прямої і зворотної реакцій:

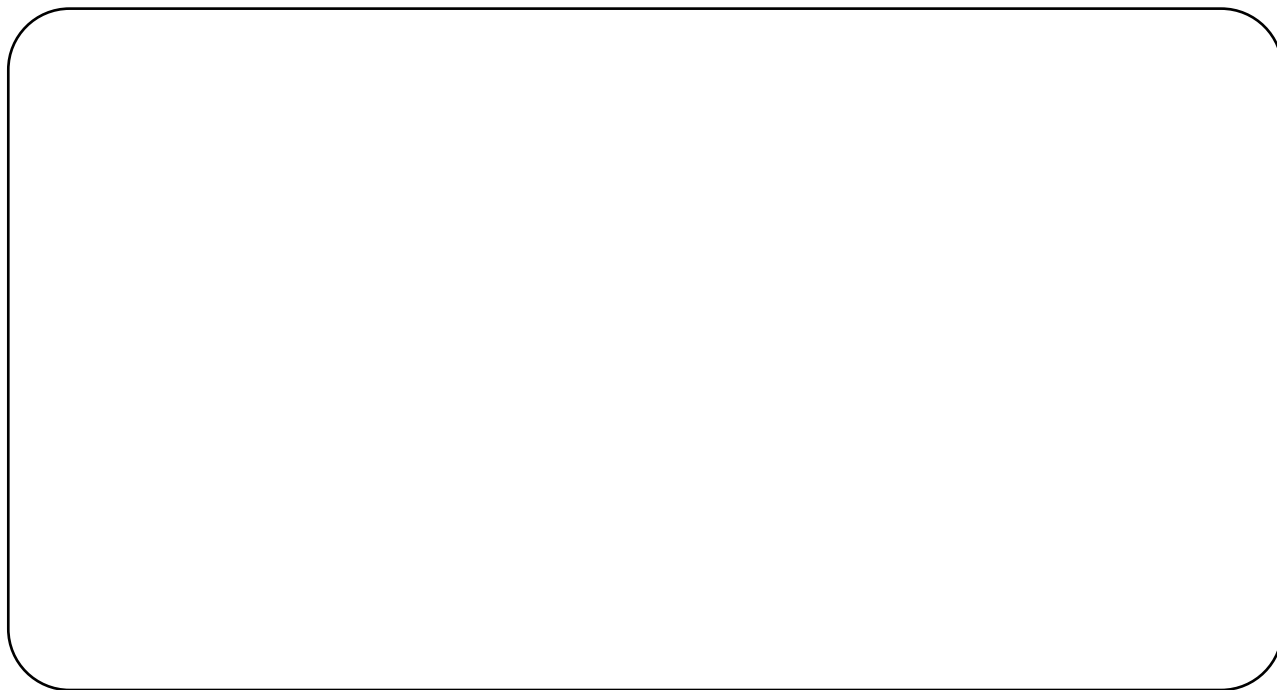
а) пряма реакція Крауса.

Додати до 2–3 мл спиртової витяжки пігментів в 1,2–2 рази більший об'єм бензину. Для кращого розділення додати краплю води. Закрити пробірку і декілька разів сильно струснути та дати відстоятись. Визначити забарвлення нижнього спиртового шару і верхнього бензинового. Замалювати дослід. Зробити висновки про різну розчинність пігментів в спирті і бензині.

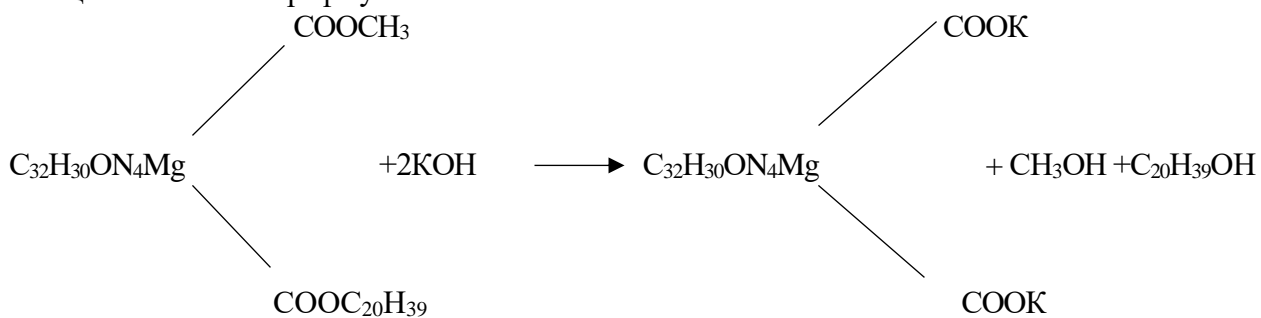
б) зворотня реакція Крауса

До пробірки, де проводилася пряма реакція Крауса, додати 2–3 таблетки NaOH або КОН. Закрити пробірку і добре струснути, дати відстоятись. Визначити забарвлення спиртового і бензинового шарів (замалювати). Серед пігментів зеленого листа лише хлорофіл здатний реагувати з лугами в реакції омилення.

Замалюйте поступові зміни кольору в пробірці при прямій та зворотній реакції Крауса

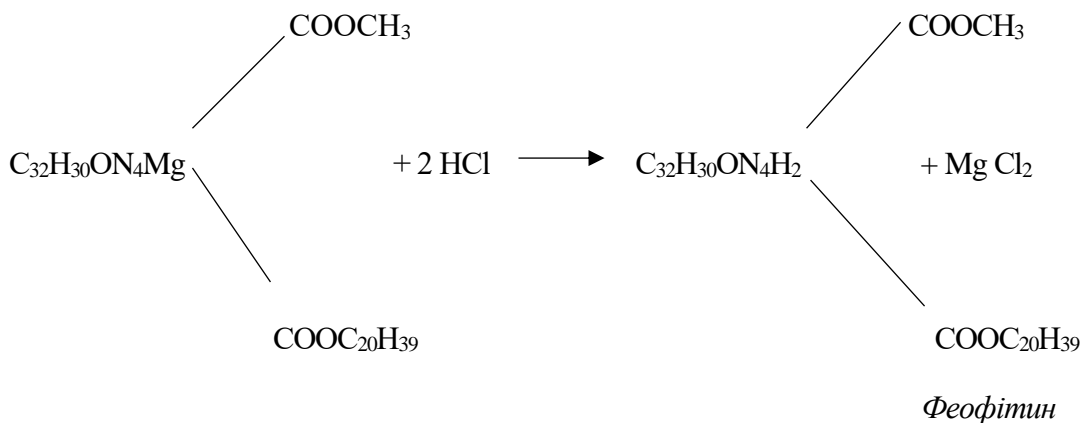


Реакція омилення хлорофілу:



3. Дослідження хімічних властивостей хлорофілу.

В попередньому досліді ми спостерігали реакцію взаємодії хлорофілу з лугом (реакцію омилення) – це одна з характерних хімічних властивостей хлорофілу. Друга властивість це взаємодія хлорофілу з розчином HCl (або іншої будь-якої кислоти).



Атом магнію можна замінити на водень та інші метали. Для цього потрібно взяти 2 пробірки з спиртовою витяжкою пігментів і додати в обидві 2–3 краплі соляної кислоти. Утворюється буро-оливкова речовина – феофітин – продукт заміщення магнію в молекулі хлорофілу двома атомами водню.

Замалюйте поступові зміни кольору в пробірці при руйнуванні та відновленні металоорганічного зв'язку

В одну з пробірок з феофітином внести на кінчику ножа оцтово-кислого цинку і нагріти вміст пробірки до кипіння. Відмітити зміну забарвлення завдяки відновленню металоорганічного зв'язку (атом цинку стає на те місце, де раніше був магній).

Напишіть рівняння відновлення металоорганічного зв'язку

4. Розділення пігментів хлоропластів методом паперової хроматографії

Хроматографічний метод розділення пігментів полягає в тому, що розчин, який містить суміш пігментів, пропускається через шар адсорбенту. Внаслідок того, що кожний пігмент має певну, тільки йому властиву, здатність адсорбуватися на адсорбенті, суміш пігментів листка, розчинена в будь-якому органічному розчиннику (бензин, спирт, петролейний ефір) при пропусканні через сухий адсорбент розділиться на окремі пігменти. При цьому пігменти розподіляються на папері або в тонкому шарі у вигляді окремих кольорових смуг.

На папері пігменти розподіляються в наступному порядку: зверху суміш пігментів, потім – хлорофіл *b*, нижче – хлорофіл *a*, ксантофіл, внизу колонки і в приймачі – каротин.

Налити витяжку в скляний стакан і занурити в неї кінчик смуги, яка вирізана з фільтрувального паперу (довжина 20 см, ширина – 1 см). Через декілька секунд, коли витяжка підніметься по паперу на 1–1,5 см, висушити папір на повітрі і знову занурити в розчин пігментів на декілька секунд. Цю операцію повторити 5–7 разів до тих пір, поки в верхній межі розповсюдження пігментів на папері не утвориться темно-зелена смуга. Після цього занурити кінчик паперової смуги на декілька секунд в чистий ацетон, щоб усі пігменти піднялися на 1–1,5 см. Смугу висушити до повного зникнення запаху ацетону, помістити її в вертикальне положення в пробірку, на дно якої налити бензин або спирт так, щоб розчинник не торкався зафарбованої зони. Пробірку закрити пробкою. Через 10–15 хв. розчин піднімається по паперу на 10–12 см. При цьому пігменти розмістяться у вигляді смуг в наступному порядку: внизу хлорофіл *b*, над ним хлорофіл *a*, потім ксантофіл, а вище всіх каротин, який піднімається разом з фронтом розчинника.

Замалюйте одержану хроматограму та/або вклейте її частину. Позначте смуги окремих пігментів.

Висновки: _____

Завдання для самостійної роботи. Заповніть таблицю «Пігменти фотосинтезу вищих рослин»

Пігменти	Особливості будови та функції
Хлорофіли	

Каротини	
Ксантофіли	

Контрольні запитання:

1. Відомо, що вдень зелені рослини збагачують атмосферу киснем, а вночі – вуглекислим газом. Як це пояснити?
2. Чому в зонах з помірним кліматом концентрація CO₂ в атмосфері взимку приблизно на 1,5% вища, ніж влітку?
3. Перерахуйте методи та поясніть механізми розподілення суміші пігментів на складові.
4. До спиртової витяжки пігментів додали вдвічі більший об'єм бензину, старанно збовтали та дали відстоятися. Яким буде забарвлення бензинового та спиртового шарів? Як це пояснити?
5. За допомогою якої реакції можна доказати, що хлорофіл є складним ефіром? Напишіть рівняння цієї реакції.
6. До спиртової витяжки із зеленого листка додали кілька крапель 20% розчину КОН, прилили бензину, добре перемішали та дали відстоятися. Який буде колір спирту та бензину? Які речовини будуть розчинені у вказаних розчинниках?
7. За допомогою якої реакції можна доказати, що зелений колір хлорофілу обумовлюється наявністю магнію? Напишіть рівняння цієї реакції.
8. До розчину феофітину додали декілька кристалів оцтовокислої міді та нагріли до кипіння. Як зміниться при цьому колір розчину?
9. Яка функція каротиноїдів у рослинах?

Матеріали, обладнання: шкільний спектроскоп, пробірки, джерело світла, чорний екран, зелені листки дослідних рослин хлорофітум, гібіскус.

Теоретичні засади роботи

В процесі фотосинтезу світлова енергія перед перетворенням в хімічну повинна бути поглинена пігментами. Пігменти поглинають світло в межах видимої частини спектра (380–720 нм) тому ця область випромінювання називається фотосинтетично активною радіацією (ФАР). Пігменти поглинають видиме світло не повністю, а вибірково, тобто кожен пігмент має свій характерний спектр поглинання. Зокрема, найважливіша особливість спектрів поглинання хлорофілу *a* і *b* – наявність у них двох яскраво виражених максимумів: в червоній області – 640 і відповідно 660 нм і в синьо-фіолетовій – 430 і 450 нм. Мінімум поглинання лежить в зоні зелених променів. В цьому можна переконатися, пропускаючи біле світло через розчин хлорофілу, а потім розкладаючи його за допомогою призми. Окремі ділянки спектра виявляться поглинутими, і на їх місці можна побачити темні смуги. Поглинутий спектр називається спектром поглинання.

В звичайному стані електрони (\bar{e}) в молекулі хлорофілу знаходяться на певних енергетичних рівнях відповідної енергії. При поглинанні кванта світла молекула хлорофілу переходить у збуджений стан. Вона має надлишок енергії і електрон при цьому переходить на більш високий енергетичний рівень. Такий стан дуже нестійкий, короточасний (10^{-9} с) і з часом електрон знову переходить на постійний енергетичний рівень. При цьому відбувається втрата енергії, яка може здійснюватися трьома шляхами: фотохімічна реакція, теплове випромінювання, флуоресценція (короточасне світіння).

При флуоресценції випромінений квант світла має більшу довжину хвилі, а відповідно і меншу енергію, порівняно з поглинутим квантом світла.

Хід роботи

1. Дослідження оптичних властивостей пігментів фотосинтезу. Спектроскоп навести поступово на витяжку із зеленого листка, потім на бензинову фракцію каротину і на розчин ксантофілу в спирті (пряма реакція Крауса). Відмітити, на місці яких ділянок спектра видимого світла з'являться темні смуги.

Заштрихувати в таблиці ділянки, де з'явилися темні смуги.

	червоний	оранжевий	жовтий	зелений	блакитний	синій	фіолетовий
1							
2							
3							
4							

Спектри поглинання:

1. спектр видимого світла
2. спектр хлорофілу
3. спектр каротину
4. спектр ксантофілу

2. Спостереження флуоресценції хлорофілу. Розглянути спиртову витяжку хлорофілу у світлі, що проходить через пробірку з хлорофілом, та у відбитому світлі.

Пробірку зі спиртовою витяжкою хлорофілу розглядають таким чином, щоб в око попали промені, які пройшли через неї. При такому освітленні вона повинна мати зелений колір. Якщо спиртову витяжку хлорофілу розглядати у відбитому світлі, вона буде гранатово-червоного

кольору. Для цього позаду пробірки розміщують темний фон і розглядають її з тієї ж сторони, де надходить світло. Це вказує на те, що хлорофіл має здатність до флуоресценції.

Забарвлення концентрованого розчину спиртової витяжки в проникаючому світлі в гранатово-червоний колір обумовлюється поглинанням всіх променів спектра, крім довгих червоних. Високу концентрацію хлорофілу одержати важко, тому її замінюють товстим шаром хлорофілу у пробірці.

Намалювати пробірку з хлорофілом і хід променів, що проходить через пробірку.



Висновки:

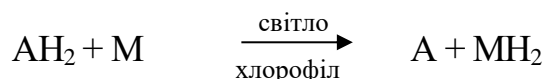
Контрольні запитання:

1. Як пояснити різний колір спиртової витяжки із зеленого листка при розгляданні її у відбитому світлі та у світлі, що проходить крізь неї?
2. Чому дуже концентровані розчини хлорофілу мають темно-червоний колір?
3. Експериментально встановлено, що інтенсивність флуоресценції хлорофілу в розчині в 10 разів вища, ніж у нативному стані (жива пластида). Чим це можна пояснити?
4. Два однакових листки протягом доби витримували в повній темряві. Потім один з листків освітлювали монохроматичним світлом, а другий – світлом широкої області червоної частини спектра (інтенсивність світлових потоків аналогічна). В якому з листків виявиться вищий вміст крохмалю і чому?
5. Два однакових листка були витримані 3 дні у темряві, а потім були освітлені протягом 2 годин: перший листок – червоним, а другий – жовтим світлом однакової інтенсивності. У якого листа буде більш високий вміст крохмалю? Як це пояснити?
6. Рослину освітлювали спочатку зеленим, а потім синім світлом такої ж інтенсивності. В яких променях спостерігатиметься більш швидке поглинання вуглекислоти листками? Чому?
7. Гілочка елодеї була занурена у воду та освітлена спочатку червоним, а потім синім світлом такої ж інтенсивності. В яких променях інтенсивніше виділятимуться пухирці з гілочки? Як це пояснити?
8. Який біологічний сенс червоного кольору глибоководних морських водоростей?
9. Які промені видимого світла поглинають хлорофіли, каратиноїди та фікобіліни?

Матеріали, обладнання: спиртова витяжка із зелених листків; аскорбінова кислота кристалічна; 0,04 % спиртовий розчин метилового червоного в крапельниці; 96 % етиловий спирт; штатив з пробірками (4 шт.); піпетки на 6 мл (2 шт.); скальпель.

Теоретичні засади роботи

Хлорофіл в хлоропластах відіграє роль фотосенсибілізатора окислювально-відновної реакції переносу електронів від донора до акцептора. Подібну дію хлорофілу можна спостерігати і в модельних системах, які містять витяжку пігментів зеленого листка. Якщо в цю систему помістити донор електронів (аскорбінову кислоту) і акцептор електронів (метиловий червоний), то на світлі відбувається необоротне відновлення барвника (М) в безбарвну лейкоформу (МН₂), а аскорбінова кислота (АН₂) окислюється в дегідроаскорбінову (А):



Щоб переконатися в тому, що відновлення метилового червоного представляє собою реакцію, яка фотосенсибілізована хлорофілом, проводять контрольні досліди з виключенням світла, аскорбінової кислоти, або хлорофілу. Ця робота відтворює дослід, відомий як «реакція Красновського».

Хід роботи

Пронумерувати 4 пробірки і налити в першу, другу і третю по 5 мл спиртової витяжки хлорофілу, а в четверту – 5 мл спирту. Внести в першу, другу і четверту пробірки кристалічну аскорбінову кислоту до насичення (надлишок реактиву осідає на дно). Додати у всі пробірки по 1 краплі розчину метилового червоного до переходу забарвлення в червоно-бурий колір (в пробірці №4 до яскраво рожевого) і добре їх струснути. Загорнути пробірку № 2 чорним папером, а інші виставити на яскраве світло.

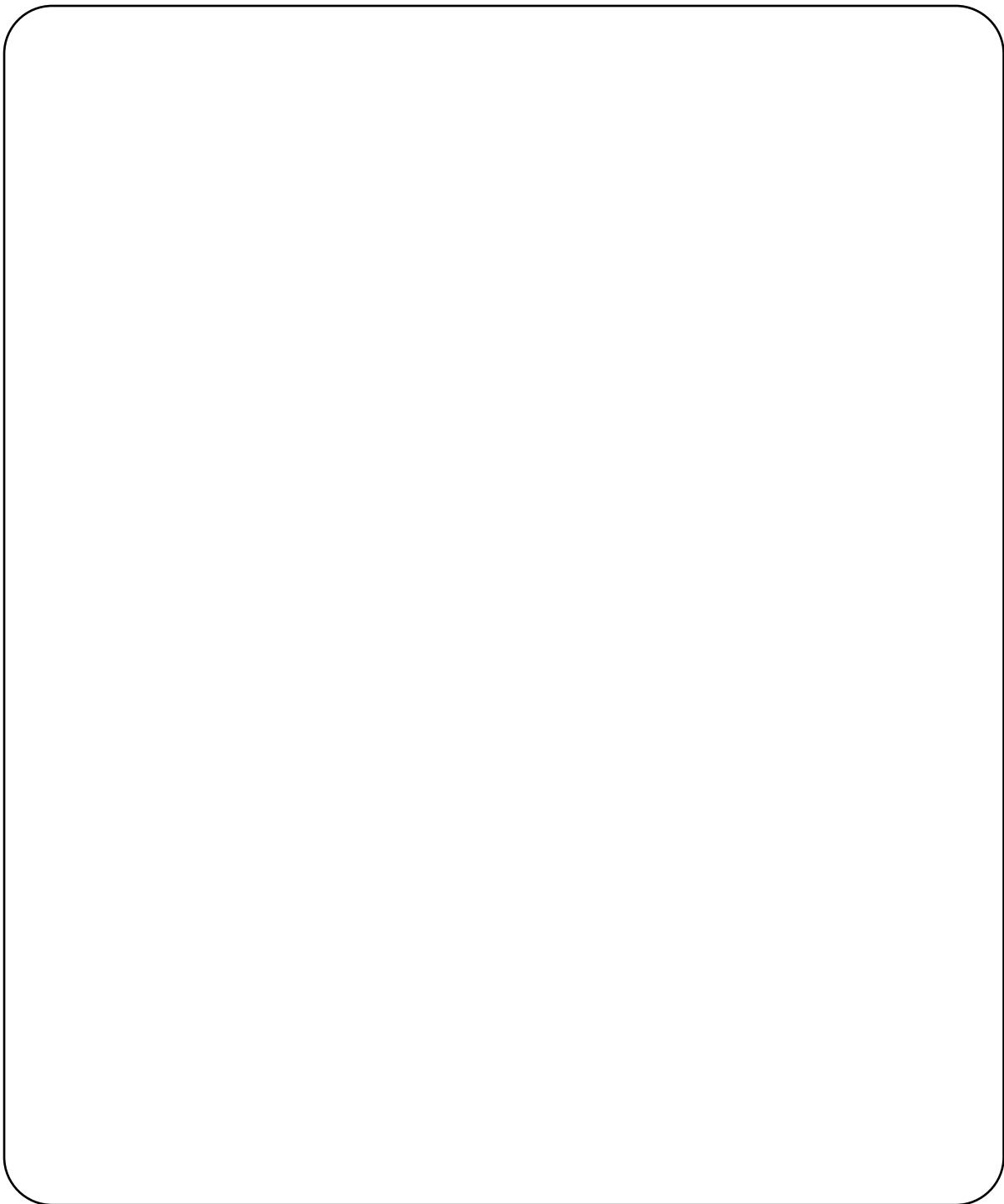
Через 15–20 хв. визначити забарвлення розчинів в пробірках

За результатами спостережень заповнити таблицю

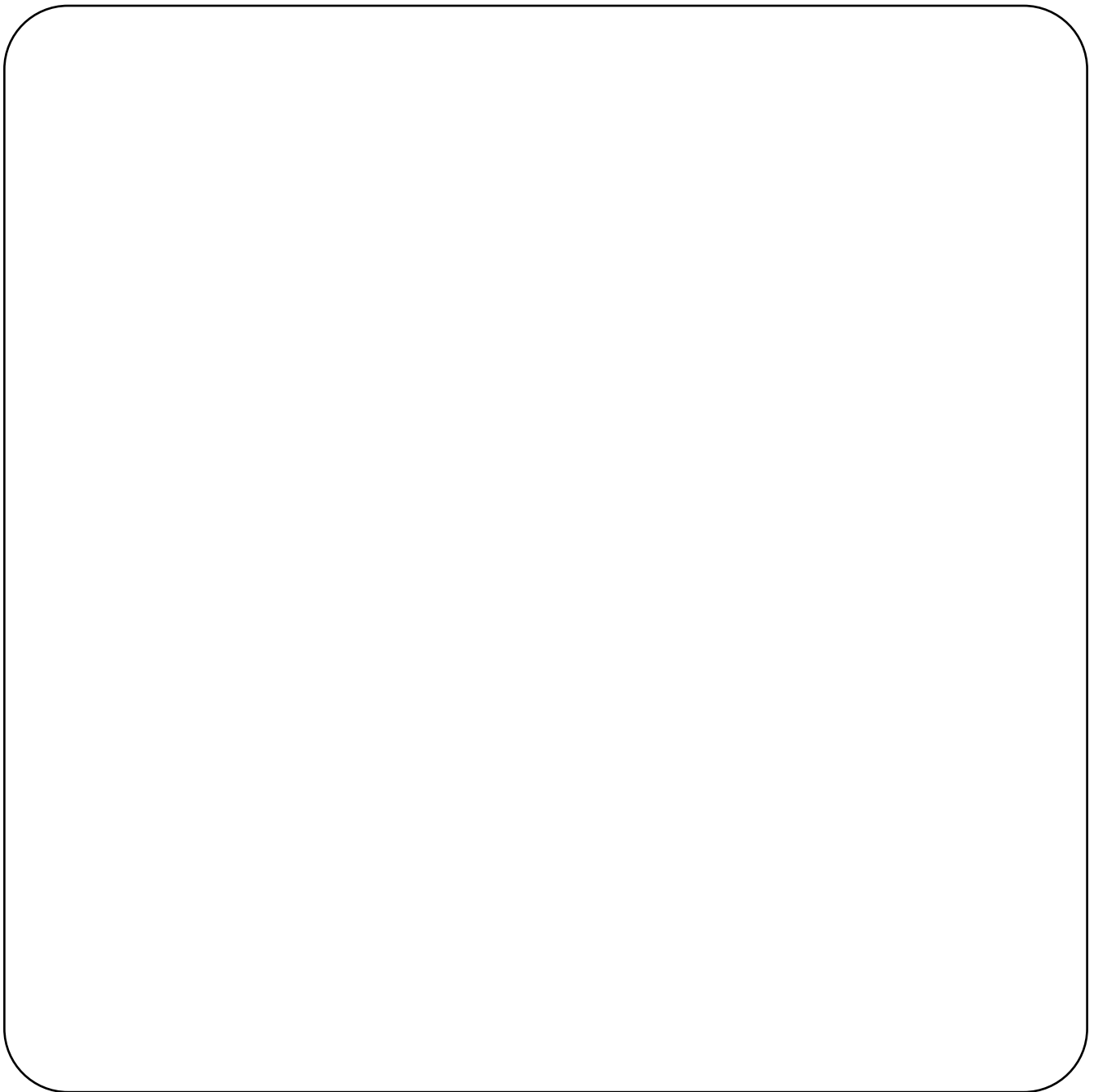
№ пробірки	Реакційна суміш	Умови	Колір розчину
1	Хлорофіл + аскорбінова кислота + метиловий червоний	Світло	
2	Хлорофіл + аскорбінова кислота + метиловий червоний	Темрява	
3	Хлорофіл + метиловий червоний	Світло	
4	Спирт + аскорбінова кислота + метиловий червоний	Світло	

Висновки: _____

Завдання для самостійної роботи: Намалювати схему C_3 - шляху фотосинтезу



Намалювати схему нециклічного транспортування електронів у рослин



Контрольні питання:

1. До спиртового розчину хлорофілу додали аскорбінової кислоти та метиловий червоний, після чого виставили на яскраве світло. Через 20 хв червоний колір розчину змінився зеленим внаслідок відновлення барвника. Яка роль хлорофілу в цій реакції?
2. Які сполуки є донорами та акцепторами електронів у процесі фотосинтезу?
3. Які процеси відбуваються під час світлової фази фотосинтезу?

Матеріали, обладнання, об'єкти роботи: акваріум з елодеєю, сода двовуглекисла, 1 % розчин двохромовоокислого калію, 4 % розчин мідного купоросу, насиченого аміаком, кювета з водою, довгий пінцет, лезо, пробірка, вставлена в колбочку або спеціальну посудину зі стоком знизу (в останньому випадку посудину закріплюють у штативі), настільна лампа, годинник, електроплита, термометр, колби (3 шт.), лінійка, спектроскоп у штативі, пробірки (2 шт.), водна рослина (елодея, роголижник та ін.).

Теоретичні засади роботи

Для визначення інтенсивності фотосинтезу водних рослин можна використовувати метод підрахунку бульбашок кисню, виділених рослиною на світлі, коли в результаті фотосинтезу кисень накопичується у міжклітинниках. При зрізанні стебла надлишок газу починає виділятися з поверхні зрізу у вигляді безперервного потоку бульбашок, швидкість утворення яких залежить від інтенсивності фотосинтезу. Даний метод не відрізняється великою точністю, проте достатньо простий і дає наочне уявлення про тісний взаємозв'язок між процесом фотосинтезу і зовнішніми умовами.

Хід роботи

Помістити гілочку елодеї з непошкодженою верхівкою у кювету з водою та поновити зріз гострою бритвою (лезом) для усунення можливої закупорки шляхів при виході газу. Занурити гілочку зрізом догори у пробірку з водою, попередньо збагаченою вуглекислою шляхом розчинення невеликої кількості соди (перед зануренням гілочку внести у пробірку на кінчику ножа NaHCO_3 та збовтати). Помістивши пробірку з гілочкою елодеї в ті чи інші умови, почекати, доки встановиться рівномірний потік бульбашок, включити секундомер і підрахувати кількість бульбашок, які виділяться за 5 хвилин. Використовуючи як джерело світла настільну лампу потужністю 100–200 Вт, зробити наступні досліди:

а) вплив освітлення

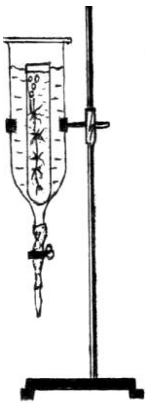
Налити воду, нагріту до $+30^\circ\text{C}$, в колбу або в скляний циліндр зі стоком знизу, і вставити в цю посудину пробірку з гілочкою елодеї. Підрахувати кількість бульбашок кисню при різних відстанях від джерела світла.

б) вплив спектрального складу світла див табл.

Підрахувати кількість бульбашок при освітленні білим світлом (пробірка занурена у посудину з водою). Потім провести спостереження при червоному екрані, замінюючи воду у зовнішній посудині розчином $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, який пропускає червоні, оранжеві і жовті промені і не пропускає синьо-фіолетові. Після цього визначити інтенсивність фотосинтезу при синьому екрані, наливаючи у зовнішню посудину розчин сірчано-аміачно-мідної солі, що пропускає блакитні, сині та фіолетові промені, але затримує довгохвильову частину спектру. Всі три спостереження провести з рідинами однакової температури і на одній і тій же відстані від джерела світла. Спектральний склад світла, що проходить крізь кольорові рідини, перевірити за допомогою спектроскопу.

в) вплив температури

Налити в зовнішню посудину спочатку теплу, а потім холодну воду, і провести підрахунки пухирців кисню при однаковій відстані від джерела світла.



*Пристрій для обліку
фотосинтезу методом
підрахунку бульбашок*

Записати у таблицю результати спостережень

Відстань від джерела світла, см	Екран	Температура, °С	Кількість бульбашок O ₂ за 5 хв.
5	білий		
10	білий		
20	білий		
5	білий		
5	червоний		
5	синій		
5	білий		
5	білий		

Висновки: _____

Завдання для самостійної роботи. Заповнити таблицю «Шляхи фотосинтезу»

Шлях фотосинтезу	В яких рослинах відбувається	Особливості
C3		
C4		
CAM		

Контрольні питання:

1. В умовах слабого освітлення, що складає 1% від повного сонячного, листки клену поглинули 0,54 мг CO₂, листки дуба виділили 0,12 мг CO₂ за 1 год на 1г сирої ваги, а у листків верби не спостерігалось ані поглинання, ані виділення CO₂. Які висновки можна зробити на підставі наведених даних?
2. У яких рослин звичайно виникає листова мозаїка – у світлолюбних чи тіньовитривалих?
3. Освітлення складає 80% від оптимальної для даної рослини величини, температура – 30% від оптимуму, а решта факторів, що впливають на фотосинтез, теж оптимальні. Назвіть фактори, посилення яких: а) викличе різке посилення фотосинтезу, б) приводить до незначного збільшення інтенсивності фотосинтезу, в) не змінить інтенсивність фотосинтезу.
4. У багатьох рослин опівдні влітку часто спостерігається виділення CO₂ листками. Які причини зумовлюють це явище?
5. Чому у C₄-типу рослин немає фотодихання?
6. Як пояснити припинення фотосинтезу у зрізаного та зануреного у воду листка навіть за найсприятливіших для фотосинтезу зовнішніх умов?
7. Не зважаючи на те, що інтенсивність фотосинтезу сосни приблизно в 3 рази менше, ніж у берези (при однакових зовнішніх умовах), врожай органічної маси цих порід при розрахунку на 1га майже однаковий. Як це пояснити?

Лабораторна
робота №10

Кількісне визначення хлорофілу в
листочках (хвої)
фотоколориметричним методом

Дата _____

Матеріали, обладнання, об'єкт дослідження: 96%-ний етиловий спирт, фільтрувальний папір, порцелянова ступка, пісок та крейда, терези, мірна колба (25 мл), ФЕК зелені листки різних видів рослин.

Теоретичні засади роботи

Фотоелектроколориметрія – визначення концентрації речовини в розчині за зміною сили струму в фотоелементі при попаданні на нього променя світла, який пройшов через досліджуваний розчин.

При проходженні світлового потоку через забарвлену прозору рідину частина світла поглинається. Ступінь поглинання світла (коефіцієнт екстинкції) у багатьох випадках прямо пропорційний інтенсивності забарвлення розчину. Забарвлення розчину залежить від концентрації в ньому розчиненої речовини: чим більша концентрація, тим інтенсивніше забарвлення і тим більше світла поглинає розчин. Ступінь світлопоглинання визначають у фотоелектроколориметрі (ФЕК). Для цього порівнюють інтенсивність світла, що пройшло через досліджуваний забарвлений розчин, і світла, що пройшло через контрольну рідину - безбарвний розчинник досліджуваної речовини. За ступенем світлопоглинання визначають вміст речовини в розчині.

Для добування точних об'єктивних даних про інтенсивність світла в прилад вводять фотоелемент. Фотоелемент перетворює світлове випромінювання на електричний струм. При попаданні світла на деякі світлочутливі речовини (селен, цезій) енергія світлових квантів передається електронам цієї речовини, які починають рухатися в одному напрямку. Якщо пластинки фотоелемента сполучити провідником, то в ньому виникає потік електронів, тобто електричний струм, силу якого можна виміряти мікроамперметром.

Сила струму пропорційна світловому потоку, що падає на фотоелемент. Якщо на шляху світлового потоку кладуть кювету з розчином, який поглинає або розсіює світло, то на

фотоелемент падає менше променів. Сила струму в ланцюгу зменшується, на що вказує відхилення стрілки амперметра. За зміною сили струму можна визначити концентрацію досліджуваної сполуки.

На вимірюванні світлопоглинання ґрунтується визначення концентрації прозорих забарвлених розчинів, тобто фотоелектроколориметрія. Описаний прилад дозволяє проводити і нефелометричні визначення, тобто визначати концентрацію речовини в зависях та емульсіях за ступенем розсіювання ними світла.

Фотоелектроколориметричні методи дають можливість виміряти інтенсивність поглинання світла за допомогою спеціальних приладів – фотоелектроколориметрів (ФЕК) або спектрофотометрів (СФ). Аналітичні лабораторії обладнані фотоелектроколориметрами різних типів: ФЕК-56-2, ФЕК-Н-57, КФК-2, КФК-3 тощо. Усі ці прилади складаються з освітлювача, світлофільтрів, фотоелементів, системи регулювання опорів, мікроамперметра. У комплект входить набір спеціальних кювет. Принцип вимірювання світло поглинання забарвлених розчинів за допомогою таких приладів полягає в тому, що потік світла, який проходить крізь кювету з розчином або розчинником, потрапляє на фотоелемент і перетворюється на електричну енергію, що вимірюється мікроамперметром.

КФК-2 (колориметр фотоелектричний концентраційний) призначений для вимірювання коефіцієнтів пропускання і оптичної густини рідких розчинів у діапазонах довжин хвиль від 315 до 980 нм та визначення на підставі цих даних концентрації речовин у розчинах (рис.).

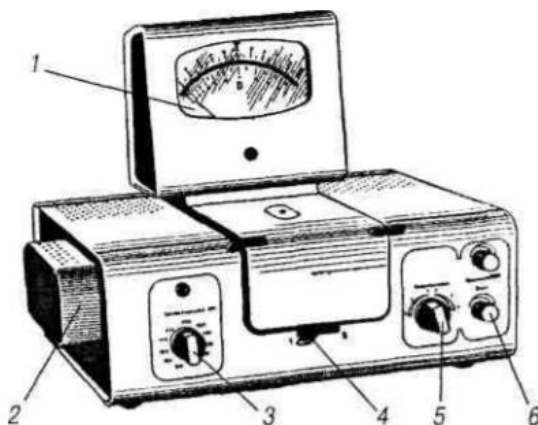


Рис. Фотоелектроколориметр КФК-2

Оптичну схему фотоелектроколориметра КФК-2 наведено на рис.

Пучок світла від лампи 1 проходить крізь конденсор 2, діафрагму 3, об'єктиви 4,5 і світлофільтри 6,7,8.

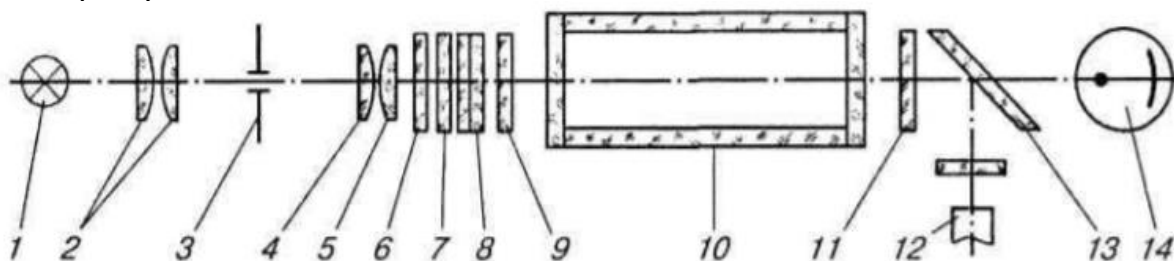


Рис. 2 Оптична схема фотоелектроколориметра КФК-2

Кювету 10 з досліджуваним розчином вводять у світловий потік між захисними стеклами 9,11. Пластина 13 розділяє світловий потік на два потоки: один потрапляє на фотодіод 12, другий – на фотоелемент 14. Фотоприймачі працюють у різних ділянках спектра: фотоелемент у ділянці 315-540 нм; фотодіод – у ділянці 590-980 нм. Підключення фотоприймачів здійснюється перемикачем, який має шість положень. У перших трьох положеннях (1-3), позначених чорним кольором, працює фотоелемент, у трьох інших (7-3), позначених червоним кольором, – фотодіод. Струм фотоприймача підсилюється і подається на вимірювальний прилад (мікроампер-метр), що

фіксує струм, сила якого пропорційна інтенсивності світлового потоку, що проходить крізь досліджуваний розчин.

Вміст хлорофілу в рослинах залежить від умов освітлення, мінерального живлення, віку рослин, ярусу листків тощо. При точних визначеннях вмісту хлорофілу його виділяють і розділяють хроматографічним методом, а при порівняльних дослідженнях вміст хлорофілу визначають у спиртовій або ацетоновій витяжці без попереднього розділення пігментів.

Хід роботи

Зважують 300-500 мг досліджуваних листків (хвої), подрібнюють і розтирають у порцеляновій ступці, додаючи CaCO_3 (на кінчику скальпеля для нейтралізації кислот соку) та трохи чистого кварцового піску. Суміш старанно розтирають до однорічної маси і поступово додають 5 мл розчинника. Отриману масу переносять на фільтрувальний папір і фільтрують. Залишок у ступці і на фільтрувальному папері промивають невеликими порціями розчинника до повного вилучення хлорофілу. Витяжку переносять у мірну колбу на 25 мл, доводять спиртом (ацетоном) до риски, збовтують і визначають оптичну густину прозорого розчину на ФЕКу. Концентрацію хлорофілу у витяжці, як правило, визначають за калібрувальним графіком. Для цього виготовляють розчин Гетрі, який за забарвленням дорівнює концентрації хлорофілу 85 мг/л. Потім проводять ряд розбавлень та знаходять оптичну густину стандартних розчинів. Будують калібрувальний графік, відкладаючи на осі абсцис концентрації, а на осі ординат – відповідні дані оптичної густини розчину Гетрі. Або використовують готову калібровочну криву.

Вміст хлорофілу у листках (хвої) обчислюють за формулою:

$$X = \frac{C \cdot V \cdot 100\%}{H}$$

C – концентрація хлорофілу у витяжці за калібрувальним графіком (мг/мл);

V – загальний об'єм екстракту (мл);

H – наважка досліджуваної речовини (мг)

Види рослин	C	H	V	X

Розрахунки

Контрольні питання:

1. Суть фотоелектроколометричного методу аналізу.
2. Перерахуйте пігменти хлорофілів та розкрийте їх властивості.
3. Які фактори та як впливають на вміст хлорофілу в рослинах?

Матеріали, обладнання, об'єкт дослідження: дистильована вода, 10% розчин соляної кислоти, 1% розчин сірчаної кислоти, 1% розчин фосфату натрію, 1% розчин молібдату амонію в азотній кислоті, 1% розчин жовтої кров'яної солі, пробірки, скляні палички, штативи для пробірок, предметні скельця, мікроскопи, фільтрувальний папір, зола різних органів рослин, спиртівка, аміак

Теоретичні засади роботи

Зольними називають ті елементи мінерального живлення, які при спалюванні рослин залишаються в золі. При спалюванні частина хімічних елементів вивільняється у вигляді газоподібних сполук, це вуглець у вигляді CO_2 , Азот у вигляді оксидів. Джерелом зольних елементів є материнська порода. Для нормальної життєдіяльності рослини необхідно 12 елементів.

Чотири елементи, з цього числа, використовується рослиною головним чином для структурних цілей. Це такі елементи - кальцій, магній, фосфор, сірка.

Кальцій - поглинається в формі двовалентного катіона Ca^{2+} . Основна функція - включення в структури серединної пластинки клітинної стінки. Кальцій відіграє важливу роль у виборчій проникності клітинної мембрани. Він нейтралізує органічні кислоти, які накопичуються в рослині.

Магній - поглинається у вигляді катіона Mg^{2+} . Він становить центральну частину молекули хлорофілу, приєднуючись до кожного з 4-х піррольних кілець. Mg є кофактором декількох ферментів. Він активує діяльність ферментів - киназ, які відщиплюють фосфорну кислоту від АТФ і переносить її на молекулу цукрів, амінокислот та ін. З'єднань з утворенням фосфорних ефірів.

Фосфор - надходить в рослини в формі аніона P^{4-} . За соті частки секунди включається в органічні сполуки в незмінному вигляді. Він служить структурним компонентом нуклеїнових кислот. Бере участь у всіх етапах перенесення енергії в клітині (АТФ містить три залишки P^{4-}). Входить до складу фосфоліпідів, які беруть участь в * мембран.

Сірка - поглинається у вигляді аніону SO_4^{2-} . У рослині відбувається відновлення поглинених сульфатів і у відновленій формі йде на синтез сірковмісних амінокислот: метіонін, цистеїн. Без сірковмісних амінокислот не могли б синтезуватися багато важливих білки клітини.

Завдяки своїй здатності до оборотного перетворення з відновленої в окислених форму сірка відіграє важливу роль в окисно-відновних реакціях.

Сірка входить до складу біокатализатора Ацетилкофемент "А". з цього біокатализатора починається реакція циклу ді-і трикарбонових кислот.

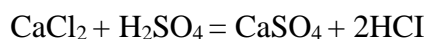
Хід роботи

Помістити у пробірку невелику кількість золи та залити її приблизно чотирьохкратним об'ємом 10% HCl . Відфільтрувати одержаний розчин у чисту пробірку через фільтр. Препарат солянокислої витяжки отримано.

Усі реакції проводять на предметному склі. Для цього на предметне скло наносять краплину витяжки 0,5 см діаметром (скляною паличкою або мікропіпеткою). Поряд, на відстані 1 см наносять таку саму краплину відповідного реактиву. Препарувальною голкою з'єднують обидві краплини дугоподібним каналом. В результаті взаємодії між розчинами в зоні їх злиття продукти реакції кристалізуються, причому кристали почнуть утворюватися по краях каналу. Препарат можна злегка підсушити над полум'ям спиртівки. Однак слід пам'ятати, що тільки при повільній кристалізації утворюються великі, правильно сформовані кристали. Слід також уникати повного перемішування краплин, бо в результаті відбудеться швидка кристалізація – випадуть дуже дрібні кристали, які у відносно великому об'ємі краплин майже непомітні. Препарат розглядають під мікроскопом без покривного скельця (об'єктив: 8, 10, окуляр – 15). Скляні палички, мікропіпетки після нанесення реактиву слід вимити і витерти фільтрувальним папером, щоб його залишки не заважали наступній реакції.

1. Виявлення кальцію.

Реактив – сірчана кислота. Відбувається реакція:

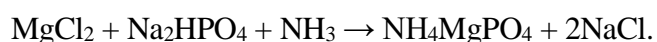


Утворюються характерні довгі тонкі голки гідратованого сульфату кальцію $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (гіпс), далі голки об'єднуються в структури, що нагадують сніжинки, які накопичуються одна на одну. Голки можуть переходити в тонкі призми і далі в маси пластинок, що нагромаджуються. Намалюйте кристали гідратованого сульфату кальцію



2. 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:



У результаті реакції утворюються кристали фосфорно-аміачно-магnezіальної солі.

Форма та вигляд кристалів залежить від швидкості кристалізації.

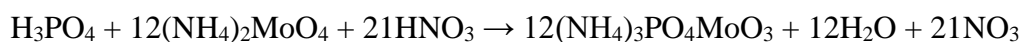
При повільній кристалізації утворюються поодинокі прямокутні кристали, при швидкій – загальний вигляд сніжинок.

Намалюйте кристали фосфорно-аміачно-магnezіальної солі



3. Виявлення фосфору.

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



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

Намалюйте кристали фосфоромолібдату амонію



4. Виявлення заліза. Реактив калій залізистосинеродистий (жовта кров'яна сіль) $K_4Fe(CN)_6$. До кількох краплин досліджуваної рідини поступово додають кілька краплин 1% розчину жовтої кров'яної солі. Наявність заліза визначають за утворенням яскравосинього забарвлення. Замалуйте результати спостережень

Висновки: _____

Завдання для самостійної роботи. Заповнити таблицю «Функції макроелементів рослини»

Елемент	Функції
Азот	
Фосфор	
Сірка	
Калій	
Кальцій	
Магній	

Контрольні питання:

1. Яким чином можна усунути хлороз у рослин, якщо ґрунт містить достатню кількість сполук заліза, але воно знаходиться в недоступній для рослин формі?
2. Внесення азотних добрив у спекотний та сухий період літа спричинило не підвищення, а навіть деяке зниження врожаю дослідних ділянок порівняно з контрольними ділянками. Чому?
3. Чому при нестачі кальцію в рослині спостерігається розм'якшення та ослизнення рослинних тканин?
4. Поясніть біологічний зміст утворення кристалів оксалату кальцію в рослинних клітинах.
5. Чому органічні добрива рекомендують вносити великими дозами і задовго до посіву?
6. За відсутності в поживному середовищі певних мікроелементів в рослин з'являються ознаки хлорозу. Відсутність якого з елементів спричиняється до найінтенсивнішого пожовтіння молодих листків?
7. Які з нижченаведених добрив є однобічними, які – двобічними і які – багатобічними: калійна селітра, гній, хлористий калій, пічна зола, торф, фосфорнокислий амоній, бура, аміачна селітра?
8. До соку, який віджали із стебла, черешка та листової пластинки, додали розчин дифеніламіну у міцній сірчаній кислоті. Жодний з перелічених об'єктів не дав посиніння, незважаючи на те, що ґрунт, на якому вирощувалась рослина, був багатий на нітрати. Зробити висновок на основі отриманих результатів.
9. Як пояснити зменшення вмісту нітратів у листках при виставленні рослини на яскраве світло?
10. В яких листків (верхніх чи нижніх) більш гостро виражені симптоми дефіциту азоту, калію та фосфору? З чим це пов'язано?

Лабораторна
робота №12

Визначення вмісту нітратів у рослинних об'єктах

Дата _____

Матеріали, обладнання, об'єкти дослідження: розчин дифеніламіну у концентрованій сірчаній кислоті (0,1 г в 10 мл кислоти) у крапельниці, біла фарфорова тарілка, ножиці, скляна паличка, вода, фільтрувальний папір, дослідні рослини, запасуючі органи рослин.

Теоретичні засади роботи

Солі азотної кислоти (нітрати), які поглинаються корінням із ґрунту, у рослині відновлюються до аміаку, який зв'язується кетокислотами (піровиноградною, щавелевооцтовою, α -кетоглутаровою), утворюючи в процесі амінування так звані первинні амінокислоти – аланін, аспарагінову та глютамінову кислоти. Інші амінокислоти утворюються шляхом переамінування.

При достатньо високій концентрації розчинних вуглеводів і значній активності відповідних ферментів перелічені біохімічні процеси відбуваються у корінні. Але частина нітратів (нерідко достатньо значна) може пройти крізь паренхіму кореня у незмінному вигляді. В цьому випадку нітрати піднімаються з висхідним потоком до листя, де і відбувається їх відновлення.

Для виявлення нітратів можна використати реакцію з дифеніламіном, який у присутності NO_3^- утворює синю анілінову фарбу. За інтенсивністю посиніння можна приблизно судити про кількість нітратів у об'єкті, що досліджується.

Хід роботи

Помістити на білу тарілку шматочки плодів, коренів та листової пластинки якої-небудь рослини. Розім'яти ці шматочки скляною паличкою (паличку після кожного зразка мити чистою водою і витирати) та полити розчином дифеніламіну у міцній сірчаній кислоті. Дослідити 2–3 рослини різних видів. Бажано, також, провести аналізи рослин одного виду, які росли у різних умовах (на погано освітленій ділянці та на сонці, до та після мінерального підживлення, тощо).

Записати результати у таблицю, оцінюючи посиніння за п'ятибальною системою

Об'єкт	Вміст нітратів, бал		
	листок	плід	корень

Висновки: _____

Завдання для самостійної роботи. Заповнити таблицю «Функції мікроелементів рослини»

Елемент	Функції
Молібден	

Марганець	
Мідь	
Цинк	
Кобальт	
Бор	
Залізо	

Контрольні питання:

1. В чому проявляється негативний вплив надлишку азотних добрив на врожай пшениці та картоплі?
2. Перед листопадом із старіючих листків яблуні відводиться у стебло до 52% азоту та 36% калію, а вміст кальцію в листках збільшується в середньому на 18%. Які висновки можна зробити на підставі наведених даних?
3. Як пояснити наявність різноманітних амінокислот та майже повну відсутність іонів NO_3^- в ксилемному соці багатьох деревинних рослин, в тому числі зростаючих на ґрунті, який вміщує багато нітратів?

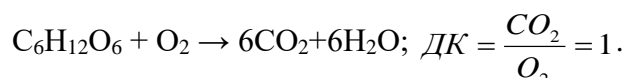
Матеріали, обладнання, об'єкти роботи: пробірка з гумовим корком з вставленою в нього зігнутою градуйованою трубкою, вода забарвлена метиленовим снім, 20% КОН, фільтрувальний папір, пінцет, проросле насіння соняшника, пшениці, гороху та ін. культур.

Теоретичні засади роботи

Співвідношення виділеного при диханні вуглекислого газу і поглинутого кисню значною мірою залежить від виду субстрату, який окислюється. Це співвідношення називають дихальним коефіцієнтом (*ДК*):

$$ДК = \frac{CO_2}{O_2}$$

Величина *ДК* залежить від ступеня відновленості органічної речовини, яка використовується як субстрат дихання, від забезпечення клітини, що дихає, киснем тощо. Наприклад, коли субстратом окислення є вуглеводи, то *ДК* дорівнюватиме одиниці, тому що при окисленні гексози (глюкози або фруктози) об'єми газів, які обмінюються при диханні, однакові:



Коли в процесі дихання використовується олія, наприклад, при диханні насіння олійних культур, то *ДК* буде менше, ніж одиниця, бо в молекулі олії менше кисню, ніж в молекулі вуглеводу, тому для її окислення витрачається більше кисню. Коли на дихання використовуються білки, то *ДК* буде меншим, ніж одиниця. Якщо субстратом дихання є речовини більш окислені, ніж вуглеводи, білки і олії, наприклад, органічні кислоти, то величина *ДК* буде більшою за одиницю.

Зручним об'єктом для визначення *ДК* є проросле насіння різних рослин, бо воно відрізняється за вмістом однорідних запасних речовин або вуглеводів, або олії, або білків, тощо.

Хід роботи

Для визначення *ДК*, в пробірку насипають (приблизно до половини) досліджуване насіння, що проклюнулось, щільно закривають гумовим корком з вставленою в нього зігнутою градуйованою трубкою, в яку вводять краплю підфарбованої метиленовим синім води. Поки триватиме дослід, температура повинна бути сталою. Для цього прилад закріплюють у штатив або ставлять у колбу, щоб не нагрівався від рук.

Коли крапля відійде від краю трубки, відмічають положення внутрішнього меніска краплі і через 5 хв. роблять другий замір, а ще через 5 хв. – третій. Після цього знаходять середню відстань, яку пройшла крапля за 5 хв.. Ця відстань відповідатиме різниці між об'ємами поглинутого O_2 і виділеного CO_2 насіння (*A*, мм).

Далі корок з трубкою обережно виймають з пробірки, провітрюють її, і пінцетом кладуть у пробірку клаптик фільтрувального паперу, змоченого в концентрованому розчині луго (папірець не повинен торкатися насіння). Після цього пробірку щільно закривають корком, вводять у трубочку нову краплину кольорової рідини і повторюють ті самі операції, що й у першому випадку. Тепер середня відстань, яку пройде крапля за 5 хв., виражатиме об'єм поглинутого в процесі дихання кисню (*B*, мм), бо виділена вуглекислота поглинається лугом. Визначивши об'єм поглинутого кисню – O_2 та об'єм вуглекислого газу – CO_2 , тобто величину *A* і *B*, легко знайти дихальний коефіцієнт.

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

Занесіть результати спостережень в таблицю

Об'єкт	Відстань, пройдена краплею за 5 хв., мм								ДК
	без луку (А)				з лугом (Б)				
	1	2	3	ср.	1	2	3	ср.	
Соняшник									
Пшениця									
Горох									

Висновки: _____

Завдання для самостійної роботи. Намалювати схему гліколізу

Контрольні питання:

1. Скільки CO_2 виділить 1 кг насіння за добу, якщо відомо, що інтенсивність дихання цього насіння дорівнює 0,1 мг CO_2 на 1 г сухої речовини за годину, а вміст води в насінні – 37,5%?
2. Чи шкідливо залишати на ніч у кімнаті квіти, якщо вони поглинають кисень, необхідний людині? Для того щоб відповісти на це питання, підрахуйте, наскільки знизиться вміст O_2 порівняно із звичайним (21% об'єму) у повітрі кімнати об'ємом 45 м^3 протягом 10 годин за рахунок дихання рослин, які мають вагу 2 кг та середню інтенсивність дихання 12 мл O_2 на 1 г за добу.
3. Зелений листок на світлі при температурі 25°C інтенсивно поглинав CO_2 , а при підвищенні температури до 40°C почав виділяти вуглекислоту. Як пояснити відзначену зміну газообміну листка?
4. Чому інтенсивність дихання бульби картоплі різко підвищується при зниженні температури від 3 до -1°C ?
5. Чому для кращого збереження овочів у сховищах підтримують низькі позитивні температури та високу концентрацію CO_2 ?
6. Яким буде склад запасних речовин насіння, якщо дихальний коефіцієнт дорівнюватиме: 0,3; 0,8; 1,0?
7. Один з факторів, які впливають на інтенсивність дихання, - це вміст у повітрі вуглекислого газу. Чому при високій концентрації CO_2 (більше 40%) інтенсивність дихання рослин гальмується?
8. Дихальний коефіцієнт у проростків пшениці при вмісті в повітрі 21% кисню становив 0,98; при вмісті 5% кисню – 0,93; при вмісті 3% кисню – 3,34. Як пояснити різке зростання величини дихального коефіцієнта?
9. В набувнявілому насінні ячменю дихальний коефіцієнт становив 0,8. При подальшому проростанні насіння дихальний коефіцієнт підвищився до 1,4. Чому?
10. Чому зерно, яке закладають на зберігання, повинно мати вологість не вищу 12-14%? Що станеться, якщо вологість зерна буде вищою?

Лабораторна
робота №14

Перетворення речовин під час проростання насіння

Дата _____

Матеріали, обладнання, об'єкти роботи: розчин Фелінга, розчин І у КІ (концентрований розчин, розбавлений у 3 рази), розчин фарби судану у крапельниці, ручний млин, водяна баня, ступки фарфорові (3 шт.), мікроскоп, предметні та покривні скельця, препарувальна голка, леза, скляна паличка, стакан з водою, фільтрувальний папір, сухе та проросле (у повній темноті) насіння пшениці та соняшника.

Теоретичні засади роботи

Насіння вміщує велику кількість запасних їстівних речовин – білків, жирів, вуглеводів та ін. В насінні одних рослин (наприклад, соняшника) жири переважають над вуглеводами (олійне насіння), в інших (наприклад, злаки) основною запасною речовиною є крохмаль (крохмалисте насіння).

При проростанні насіння складні запасні речовини за участі ферментів перетворюються у більш прості, які використовуються у процесі росту і дихання.

Для того, щоб встановити, яким перетворенням підлягають запасні речовини при проростанні, треба порівняти хімічний склад непророслого насіння і проростків, які виростили з цього насіння.

Хід роботи:

Сухе насіння пшениці розмолоти на млині. Насіння соняшника очистити від луски і розтовкти у ступці. Проростки пшениці і соняшника подрібнити скальпелем (разом з коренями) і розтерти у ступках. Розмістити у чотири підписаних пробірки однакову кількість матеріалу (для кожного об'єкта використовувати окремих скальпель), налити воду до половини об'єму пробірок і поставити пробірки на киплячу водяну баню на 15–20 хв. для екстракції розчинених речовин. Злити витяжки у чисті підписані пробірки, додати рівний об'єм розчину Фелінга і витримати пробірки на киплячій водяній бані протягом 5 хв.

За кількістю Cu_2O , який утворився, дати оцінку вмісту редуруючих цукрів. До матеріалу, який залишився у пробірках, додати розчин йоду, та за інтенсивністю посиніння дати оцінку вмісту крохмалю.

Зробити тонкі зрізи непророслого та пророслого олійного насіння, покласти на предметні скельця у краплю розчину фарби судана, накрити покривними скельцями. Через 5 хв. промити зрізи водою, роздивитися у мікроскоп і дати оцінку вмісту жиру – за кількістю і розмірами крапель, забарвлених у червоний та помаранчевий колір.

Можливо використовувати і простіший спосіб оцінки вмісту жиру: покласти на фільтрувальний папір сухе і проросле насіння, роздавити його, підсушити папір і роздивитися на світлі олійні плями.

Крохмальні зерна роздивитися на сухих або пророслих розрізаних вздовж зернівках пшениці. Препарувальною голкою з ендосперму поблизу зародка зішкрябати борошно, розтерти у краплі води на предметному склі, роздивитися при великому збільшенні і замалювати крохмальні зерна (у пророслому насінні – на різних стадіях руйнування).



Занести результати у таблицю, оцінивши вміст крохмалю, цукру і жиру за п'ятибальною системою

Насіння	Крохмаль	Редуковані цукри	Жири
Крохмалисте сухе			
Крохмалисте проросле			
Олійне сухе			
Олійне проросле			

Примітка. У зв'язку з тим, що кількість жирів у крохмальному насінні дуже невелика і даній роботі не виявляється, у таблиці дана оцінка вмісту цих речовин.

Зробити висновки про перетворення вуглеводів та жирів при проростанні крохмалистого та олійного насіння.

Висновки: _____

Завдання для самостійної роботи. Заповнити таблицю «Характеристика основних шляхів дихання»

Шлях дихання	Умови, органи, енергетичний вихід, субстрати
Аеробне дихання	
Анаеробне дихання (гліколіз)	

Лабораторна
робота № 15

**Визначення енергії та схожості
насіння сільськогосподарських
культур**

Дата _____

Матеріали, обладнання, об'єкти роботи: дистильована вода, фільтрувальний папір, пінцети, ростильні, чашки Петрі, насіння сільськогосподарських рослин.

Визначення схожості насіння

Аналізування схожості проводять на насінні основної культури, виділеному під час визначення чистоти. Для цього довільно відраховують 400 насінин по 100 або 50 (для крупнонасінних культур) штук у кожному повторі. Насіння рівномірно розміщується на зволоженому субстраті.

Під час аналізування використовують фільтрувальний папір (Ф) та пісок (П). Фільтрувальний папір, як субстрат для ложе використовують за двома варіантами: – на папері (нФ) та – в папері (вФ). Для зволоження папір занурюють у воду; виймають і дають стекти надлишку води.

Під час аналізування – на папері насіння розкладають на одному чи декількох шарах зволоженого паперу, укладеного у ростильні або чашки Петрі, верхні ростильні покривають скляними пластинами або порожніми ростильними, а чашки Петрі – накривками.

Під час аналізування – в папері насіння розкладають між двома шарами зволоженого паперу. Папір можна використовувати у вигляді конвертів, рулонів, гофрів різного профілю (W, M, тощо), вкладати його горизонтально чи вертикально (насінини розміщують зародками донизу).

Пісок як субстрат для вирощування насіння (просіяний через решето з отворами діаметром 1 мм, промитий, прожарений до обуглювання шматка паперу вкладеного в нього) використовують за такими варіантами: – на піску (нП) – насіння втискають у поверхню піску на їхню товщину (діаметр); або – в піску (вП) – розкладене на ложе насіння покривають шаром піску товщиною 1-2 см.

Насіння кукурудзи, соняшнику та інших крупнонасінних культур розміщують зародком до низу.

Під час аналізування свіжозібраного насіння з незавершеним періодом фізіологічного досягання вживають заходів, щодо подолання стану спокою, а саме: попереднє охолодження, прогрівання, промивання, обробку можна проводити хімічними речовинами.

Таблиця Тривалість аналізування

Культура	Температура	Терміни обліку діб		Додаткові умови
		Першого	Остаточного	
Жито	20	4	7	По, Пп, ГК
Кукурудза	20, 25, 20-30	4	7	По, О
Овес	20	5	10	Пп (30-35°C) По, ГК
Пшениця	20	4	8	По, Пп (30-35°C), ГК
Ячмінь	20	4	7	По, Пп (30-35°C), ГК

Під час першого обмірковування окремі оцінюють і враховують нормально пророслі насінини, а також насінини з вираженими ознаками аномалій та зігнилі. Дві останні групи видаляють, а нормально пророслі – у разі потреби.

До нормальних проростків відносять такі, у яких найбільш важливі структури (корінці підсім'ядольне та надсім'ядольне коліна, брунечка, сім'ядолі, колеоптіль) добре і пропорційно розвинуті, цілі, здорові, а також з незначними дефектами тих структур, що не впливають на нормальний розвиток проростка. До них відносять й нормально розвинуті проростки з ознаками поверхневої інфекції, набутої від сусідніх хворих насінин.

У культур, насіння яких проростає кількома зародковими корінцями (зернові колосові культури) до нормально пророслих зернівок відносять ті, що мають не менше двох нормально розвинутих корінців, більших за довжину зерна й росток розміром, не меншим половини його довжини. У насінні ячменю і вівса довжину ростка (кільчика) визначають за тією його частиною, що вийшла за межі квіткових лусок.

У насінні гороху, кукурудзи, проса та інших культур, які проростають одним корінцем, до нормально пророслих відносять зернівки, що мають розвинутий головний зародковий корінець, розміром не меншим, ніж довжина (діаметр) зерна й сформований росток не менший половини довжини (діаметра) насінини. У нормально пророслих насінин соняшнику сім'ядолі повинні легко звільнитися від плодової й насінневої оболонки.

До аномальних проростків відносять такі, які неспроможні розвинути у повноцінні рослини навіть за сприятливих умов.

До них відносять:

- проростки, у яких відсутня або сильно пошкоджена будь-яка структура, що робить неможливим подальший пропорційний їх розвиток;
- слабозвинені проростки внаслідок фізіологічних порушень, а також проростки з деформованими структурами;

- зігнилі проростки.

Правила оформлення результатів аналізування.

Результати аналізування заносять у робочі картки установленої форми.

Отриманні під час аналізування схожості результати виражають у відсотках за кожною з виявлених категорій (нормальні й аномальні проростки, проросле і непроросле насіння, зокрема тверде, мертво.)

Достовірність аналізування встановлюють порівнюючи крайні значення повторів з середньоарифметичним.

Результат вважають достовірним, якщо різниця між ними і середньоарифметичним значенням, яке обчислюють до цілого числа, не перевищує гранично допустимих відхилів.

Якщо результати одного з повторів мають відхили більші ніж допустимі, то схожість обчислюють за трьома повторами. Енергію проростання у цьому випадку визначають за тими самими трьома повторами.

У випадку, коли результати двох повторів з чотирьох виходять за межі допустимих відхилів, схожість визначають повторно.

Якщо ж результати і другого аналізування перевищують допустимі відхили, то середнє значення обчислюють за обома каналізуваннями.

Повторне аналізування проводять також тоді, коли:

- допущені методичні порушення у ході аналізування;
- виявлені проростки, які важко оцінити, до яких груп їх віднести;
- значна поширеність інфекції або фітотоксичності;
- аналізування виявило, що насіння перебуває у стані фізіологічного спокою;
- відхили схожості від нормативної у бік зменшення не перевищує 5%.

Аналізування повторюють одним або декількома альтернативними методами. У документі вказують кращий результат (у відсотках) і метод.

Аналіз результатів досліджень

Культура	Проба	Схожість %	Відхилення від середньоарифметичні схожості, %
пшениця	I	93	93-93=0
	II	94	93-94=-1
	III	92	93-92=1
	IV	92	93-92=1

Середньоарифметичне значення схожості: $\frac{(93+94+92+92)}{4} = 93\%$

Схожість даної проби відповідає вимогам ДСТУ 2240-93. Не менше 92%

Хід роботи

Заповніть таблицю власними даними

Культура	Проба	Схожість %	Відхилення від середньоарифметичні схожості, %
	I		
	II		
	III		
	IV		

Висновки

Контрольні питання

1. Чи можна віднести до категорії ростових явищ: а) набрякання насіння у воді, б) набрякання бруньок перед їх розпусканням? Поясніть.
2. Чому при будь-якому положенні насінини в ґрунті корені ростуть вниз? В якому напрямку ростимуть корінці проростків в стані невагомості?
3. Частину пагонів (невідокремлених від рослини) ізолювали від світла, решту залишили в умовах нормального освітлення. Що відбуватиметься з пагонами, ізолюваними від світла? Чи впливають на їхню життєдіяльність пагони, що залишилися на світлі?
4. На пластинці з крохмального агару розмістили проросле та непроросле насіння пшениці, розрізане навпіл та змочене водою. Через годину насіння зняли з пластинки і залили її розчином йоду. Який буде результат цього досліду та як це пояснити?
5. Яких рослин більше (по кількості видів) – з крохмалистим чи олійним насінням? Дайте пояснення цій закономірності.
6. Чому підмерзлі бульби картоплі солодкі на смак?
7. На корінець проростка кукурудзи нанесли позначки тушшю на однаковій відстані одна від одної і помістили проросток у вологу камеру. Як зміниться розташування позначок через 24 години?

Лабораторна
робота № 16

Періодичність росту рослин

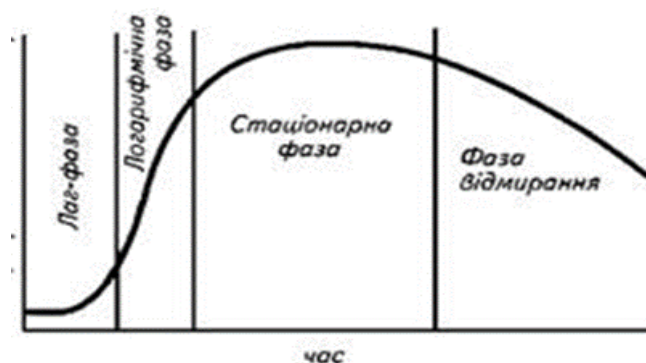
Дата _____

Матеріали, обладнання, об'єкти роботи: лінійка або міліметровий папір; кількарічні пагони тополі чорної *Populus nigra*, робінії псевдоакації *Robinia pseudoacacia*, сосни звичайної *Pinus sylvestris* або інші .

Теоретичні засади

Характер росту будь-якого організму, органа або популяції клітин має вигляд S-подібної кривої росту, яка складається з лаг-фази (початкова фаза прихованого росту), лог-фази (фаза інтенсивного росту), фази уповільненого росту і стаціонарної. На початковій фазі прихованого росту (лаг-фаза) функціонують механізми, пов'язані з новоутворенням нуклеїнових кислот (ДНК і РНК), біосинтезом білків-ферментів і фітогормонів. Під час наступної фази росту (лог-фаза) відбувається активний ріст клітин розтягуванням, з'являються нові тканини, органи, збільшуються їх розміри. На третій фазі ріст завершується, накопичуються речовини-інгібітори. Вся рослина або окремі її частини можуть переходити у стан спокою.

Тривалість кожної із складових S-подібної кривої і характер її проходження залежать від зовнішніх і внутрішніх факторів.



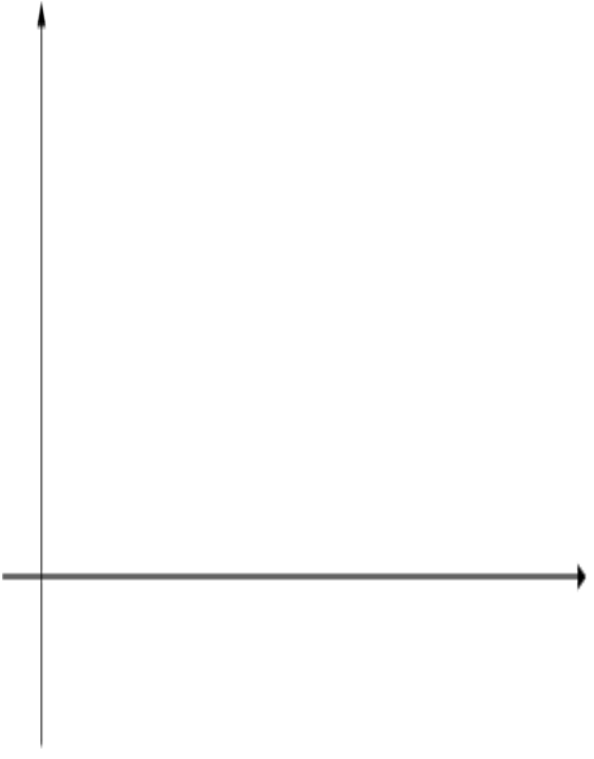
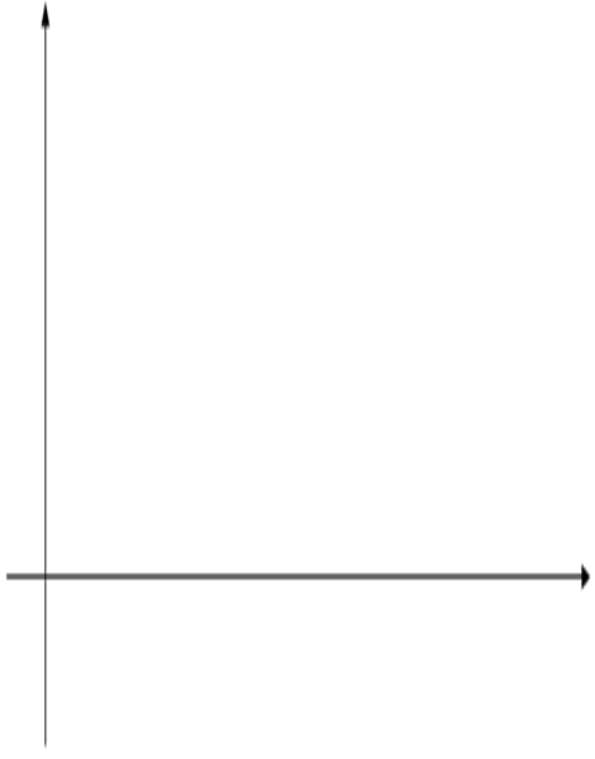
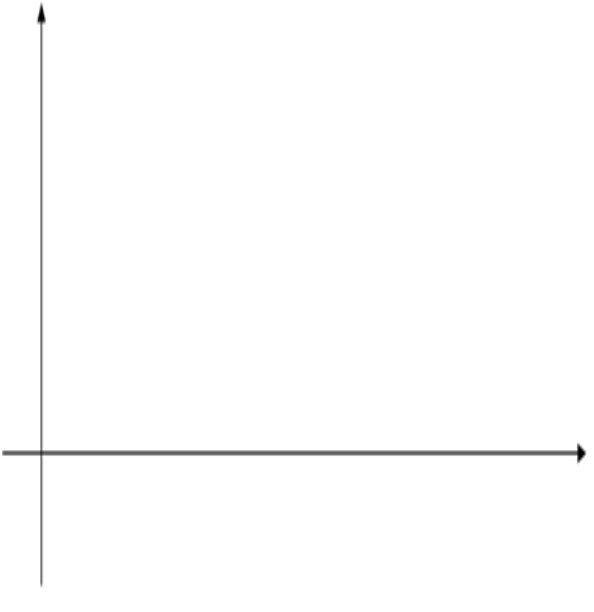
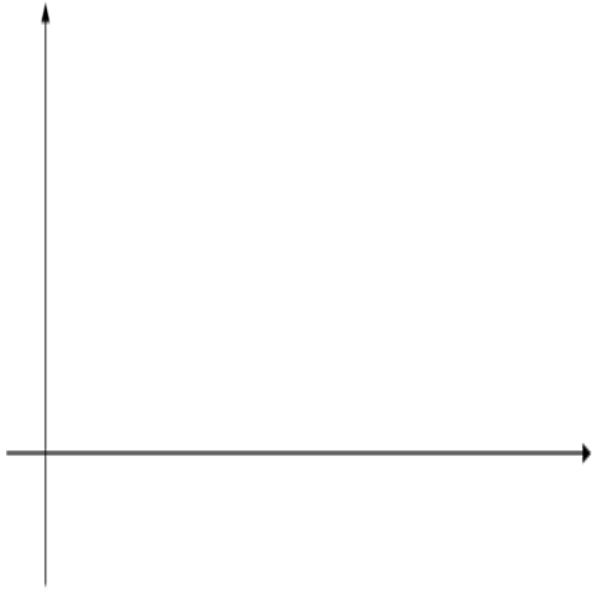
Організм у процесі життєвого циклу змінюється, відбувається його розвиток. Під розвитком розуміють якісні фізіологічні, біохімічні і морфологічні зміни, які відбуваються при новоутворенні елементів структури організму. Якщо вважати, що ріст – це процес новоутворення структури організму, а розвиток – зміни у новоутворенні елементів структури, зумовлені проходженням організмом життєвого циклу, то постає питання про наявність межі між ростом і розвитком. Однак, ріст і розвиток неможливо чітко розмежувати. Наприклад, розростання пагона зумовлене розмноженням і збільшенням клітин і є виявом ростових процесів. Утворення паростка при проростанні насіння, припинення спокою у деревних рослин, формування спеціалізованих тканин вміщує як якісні, так і кількісні зміни, тому неможливо провести чіткий розподіл між ростом і розвитком.

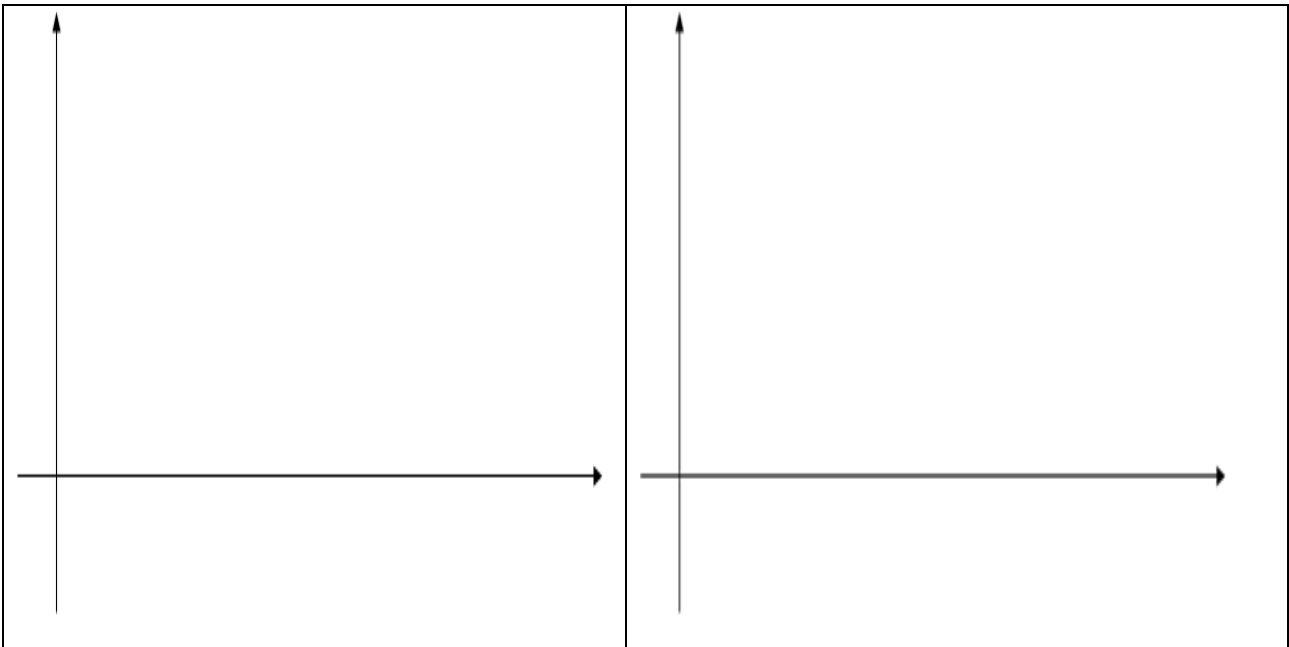
Хід роботи

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

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

За даними таблиці побудувати криву росту міжвузлів та росту пагону, характерну для різних рослин. На основі отриманих графіків зробити висновки.

Крива росту міжвузлів	Крива росту пагону
 <p>A blank coordinate system with a vertical y-axis and a horizontal x-axis, both ending in arrows. The axes intersect at the origin.</p>	 <p>A blank coordinate system with a vertical y-axis and a horizontal x-axis, both ending in arrows. The axes intersect at the origin.</p>
Крива росту міжвузлів	Крива росту пагону
 <p>A blank coordinate system with a vertical y-axis and a horizontal x-axis, both ending in arrows. The axes intersect at the origin.</p>	 <p>A blank coordinate system with a vertical y-axis and a horizontal x-axis, both ending in arrows. The axes intersect at the origin.</p>
Крива росту міжвузлів	Крива росту пагону



Висновки:

Завдання для самостійної роботи. Заповнити таблицю «Системи регуляції росту рослин»

Система регуляції	Особливості
Метаболічна	
Мембранна	

Генетична	
Трофічна	
Фітогормональна	

Контрольні питання:

1. З 20-річної тополі були зрізані 2 живці: один був взятий з крони, а інший – із пагона, який виріс у основі стовбура. Обидва живці висаджені у ґрунт. Який з вказаних живців буде краще укорінюватись? У якої з вказаних рослин буде спостерігатись більш швидкий ріст? Яка рослина скоріше зацвіте? Поясніть.
2. Як пояснити появу паростків на пнях таких порід, як дуб, липа, береза?
3. Коли спостерігається інтенсивніший ріст рослин – вдень чи вночі? Дія яких факторів зумовлює різницю в інтенсивності росту?
4. Сіянци сосни вирощувались у трьох вегетаційних посудинах з ґрунтом, вологість якого складала: 1) 30%, 2) 60%, 3) 90% від повної вологоємності. Через 5 місяців була виміряна довжина головного пагона сіянців, яка у відповідних посудинах дорівнювала: 1) 3,9 см, 2) 11,5 см, 3) 6,4 см. Як пояснити отримані результати?

Список рекомендованих джерел

1. Власенко М.Ю., Вельямінова-Зернова Л.Д., Мацкевич В.В. Фізіологія рослин з основами біотехнології / М.Ю. Власенко, Л.Д. Вельямінова-Зернова, В.В. Мацкевич. – Біла Церква. – 2006. – 504с.
2. Грицайчук В. В., Никитюк Л. В. Фізіологія рослин. Методичні рекомендації до лабораторних робіт. – Х.: 2017. – 67 с.
3. Кузнецов В.В. Физиология растений / В.В. Кузнецов, Г.А. Дмитриева. – М.: Высш.шк. – 2006. – 504с.
4. Медведев С.С. Физиология растений: учебник / С.С. Медведев.– СПб: Изд-во: С.-Петерб. ун-та. – 2012. – 512с.
5. Мусієнко М.М. Фізіологія рослин: підручник / М.М. Мусієнко – Київ, «Либідь», 2005. – 808с.
6. Мусієнко М.М. Фотосинтез / М.М. Мусієнко. – К.: 1995. – 247с.
7. Полевой В.В. Физиология растений: учебник / В.В. Полевой – М.: Высшая школа. – 1989. – 464с.
8. Полевой В.В. Физиология роста и развития растений / В.В. Полевой, Т.С. Саламатова. – Л.: Изд-во Ленинградского ун-та. – 1991. – 238с.
9. Терек О.И. Рост растений и физиологически активные вещества: учебное пособие / О.И. Терек. – К.: УМК ВО. – 1990. – 51с.
10. Терек О.І. Ріст рослин: навчальний посібник. / О.І. Терек. – Львів, Видавничий центр ЛНУ імені Івана Франка. 2007. – 248с.
11. Физиология растений: Учебник для студ. вузов. Под ред. Ермакова И.П. 2 изд. - М.: Издательский центр "Академия", 2007. – 640с.
12. Якушкина Н.И. Физиология растений / Н.И. Якушкина – М.: Просвещение – 1993. – 351с.

Автори:
Твердохліб Олена Володимирівна
Потапенко Галина Сергіївна

Назва видання:
Альбом для лабораторних занять з дисципліни «Фізіологія рослин».

Навчальне видання

Надруковано у авторській редакції
Відповідальний за випуск – Твердохліб О. В.

Підписано до друку 00.00.2022. Формат 60 × 84 / 8.
Папір офісний. Умовн. друк арк. 2,75. Тир. 300 прим.

Харків: ХНПУ, 2022.

Надруковано з готового оригінал-макету у друкарні ФЦП Петров В.В.
Єдиний державний реєстр юридичних осіб та фізичних осіб-підприємців
Запис № 24800000001066167 від 08.01.2009 р.
61144, м. Харків, вул. Гв. Широнінців, 79в, к. 137
тел. (057) 778-60-34; e-mail:bookfabrik@mail.ua