

М.О. Клименко, О.О. Бедункова

БІОЛОГІЯ

Лабораторний практикум



УДК 573
ББК 28.3
К 49

*Затверджено вченою радою Національного університету водного господарства та природокористування
(Протокол № 1 від 29 січня 2014 р.)*

Рецензенти:

Сондак В.В., доктор біологічних наук, професор Національного університету водного господарства та природокористування;
Лико Д.В., доктор сільськогосподарських наук, професор Рівненського державного гуманітарного університету;
Волкошовець О.В., кандидат біологічних наук, доцент Національного університету водного господарства та природокористування

М.О. Клименко, О.О. Бедункова

К 49 Біологія. Лабораторні практикум. Навч. посібник. – Рівне: НУВГП, 2014. – 83 с. Іл. 23. Табл. 8. Бібліогр.: 15 назв.

У практикумі розглянуто необхідні теоретичні відомості, зміст та послідовність виконання лабораторних робіт, тематика яких відповідає основним темам курсу біології.

Призначений для підготовки бакалаврів за напрямком 6.040106 „Екологія, охорона навколишнього середовища та збалансоване природокористування”.

УДК 573
ББК 28.3

© Клименко М.О.,
Бедункова О.О., 2014
© Національний університет водного
господарства та
природокористування, 2014

ЗМІСТ

	ст.
Передмова	4
Лабораторна робота №1 Правила роботи з мікроскопом. Методика виготовлення тимчасових препаратів.....	5
Лабораторна робота №2 Будова рослинної і тваринної клітини...	11
Лабораторна робота №3 Анатомічна будова тканин рослинного організму.....	19
Лабораторна робота №4 Первинна і вторинна будова кореня.....	29
Лабораторна робота №5 Визначення інтенсивності транспірації ваговим методом	34
Лабораторна робота №6 Захисні механізми клітин: ферментативне розщеплення перекису водню	38
Лабораторна робота №7 Осмотичні властивості клітини та механізм надходження води в клітину	43
Лабораторна робота №8 Визначення вмісту органічної речовини в листках рослин	49
Лабораторна робота №9 Визначення інтенсивності дихання пророслого насіння в закритій посудині	53
Лабораторна робота №10 Визначення стійкості рослин до високих температур.....	56
Лабораторна робота №11 Вивчення морфологічних особливостей представників класу нижчих ракоподібних	59
Лабораторна робота №12 Вивчення зовнішньої морфології і внутрішньої будови представників класу кісткові риби	62
Лабораторна робота №13 Утворення, будова та хімічний склад пташиного яйця	67
Лабораторна робота №14 Мікрофлора організму людини	71
Лабораторна робота №15 Мікроскопічна будова формених елементів крові.....	76
Додаток	80
Рекомендована література	82

ПЕРЕДМОВА

Лабораторний практикум з дисципліни “Біологія” призначений студентам напряму підготовки 6.040106 „Екологія, охорона навколишнього середовища та збалансоване природокористування” для використання під час підготовки та виконання лабораторних робіт з даної дисципліни.

Завданням лабораторного практикуму є сприяння у пізнанні студентами особливостей різних рівнів організації живого, формування цілісного уявлення про біологічне різноманіття, а також здобуття навичок у вирішенні проблемних ситуацій на конкретних прикладах. Практикум дозволить студентам полегшити підготовку до лабораторних робіт і отримати необхідний мінімум теоретичних відомостей за матеріалом, що вивчається. Для більш глибокого вивчення курсу приведено перелік рекомендованої літератури. В кінці кожної лабораторної роботи подано контрольні питання, які орієнтують студентів при підготовці теоретичного матеріалу.

Тематика лабораторних робіт відповідає передбаченим типовою та робочими програмами нормативним навчальним елементам змістових модулів: 1- «Основи загальної біології», 2 - «Ботаніка з основами фізіології та екології рослин», 3 - «Зоологія з основами фізіології та екології рослин».

У практикумі підібрано роботи різного рівня складності. Всі роботи експериментального характеру та доступні для виконання в лабораторних умовах. Загальна кількість лабораторних робіт дещо більша, ніж заплановано робочою програмою, тому виконувати роботи можна з урахуванням наявності біологічного матеріалу та обладнання навчальної лабораторії.

У додатку викладено порядок підготовки, виконання, оформлення та захисту лабораторних робіт.

Автори мають надію, що цей посібник стане у нагоді при підготовці фахівців в галузі екології та збалансованого природокористування, а також при дослідженнях та системних моніторингових спостереженнях за станом екосистем на різних рівнях їх організації, з метою розробки стратегії їх оздоровлення, збереження і раціонального використання.

Лабораторна робота №1

Тема: ПРАВИЛА РОБОТИ З МІКРОСКОПОМ. МЕТОДИКА ВИГОТОВЛЕННЯ ТИМЧАСОВИХ ПРЕПАРАТІВ

Мета роботи: Ознайомитись з будовою та правилами роботи з мікроскопом. Засвоїти методику виготовлення тимчасових препаратів.

Завдання:

1. Дізнатись про основні методи мікроскопії та історію відкриття мікроскопу.
2. Вивчити будову і правила роботи з мікроскопом.
3. Ознайомитись з методикою виготовлення тимчасових препаратів.

Основні поняття

Для вивчення анатомічної будови рослинних і тваринних клітин, а також морфологічної будови рослин та їх органів користуються світловими мікроскопами різних систем, в яких об'єкт освітлюється нормальним (нерозчленованим) світловим променем.

У кожному світловому мікроскопі розрізняють три основних частини: механічну, освітлювальну та оптичну (рис. 1.1 – 1.3).

Механічна частина мікроскопа складається з штатива, тубуса, револьвера, предметного столика, мікрометричного гвинта (або кремальєри) і мікрометричного гвинта. Штатив складається з масивної підковоподібної ніжки, на якій кріпиться весь мікроскоп і тубосотримач. До тубосотримача прикріплено тубус (зорова труба), який пересувається вгору і вниз за допомогою мікрометричного і мікрометричного гвинтів. До штативу прикріплено предметний столик. У центрі столика є отвір, над яким кладуть предметне скло. Воно фіксується двома затискачами (клемами). Знизу до тубуса рухомо прикріплено револьвер-пластинку з трьома-чотирма об'єктивами.

Освітлювальна частина мікроскопа складається з дзеркала, конденсора та діафрагми. Дзеркало закріплене рухомо під предметним столиком. З одного боку воно плоске, а з другого – увігнуте. Плоскою і увігнутою поверхнею користуються залежно від джерела світла і особливостей об'єкта. Конденсор, що знаходиться між предметним

столиком і дзеркалом, складається з кількох лінз. Діафрагма закріплена на нижній поверхні конденсора. Промені від джерела світла відбиваються дзеркалом і спрямовуються в конденсор. Лінзи конденсора концентрують світлові промені і спрямовують їх через отвір предметного столика на досліджуваний предмет та в об'єктив. Діафрагма регулює ширину пучка, збільшує або зменшує освітлення предмета.

Оптична частина мікроскопа складається з системи лінз, окуляра і об'єктивів. Окуляр встановлений у тубус зверху. На оправі окуляра є цифри, які показують його збільшення (наприклад 7х, 10х, 15х). Об'єктив - це система лінз, вправлених у трубку-гільзу. Об'єктиви закріплені у револьвері. Вони можуть давати від малого (7х, 8х, 10х) до великого (40х, 90х) збільшення. Щоб знати загальне збільшення мікроскопа, слід перемножити цифри, що стоять на оправі окуляра і об'єктива.

Стосовно того, хто першим сконструював мікроскоп, немає єдиної думки. В усякому разі, це відбулося на початку XVII ст. одночасно в різних країнах. Безперечно, заслуги у винайденні мікроскопа мають як голландці брати Янсени, так і італійці Галілео Галілей і Кеплер. Перші мікроскопи давали відносно невеликі збільшення (у 10-12 разів).

Видатний англійський учений Роберт Гук удосконалив мікроскоп і в своїй книзі "Мікрографія" (1660 р.) вперше описав коробочки (клітини) у зрізі з корка, а також з інших рослинних об'єктів. По суті це не були клітини в сучасному розумінні, а лише клітинні стінки, проте термін "клітина", як елементарна структура живого, залишився в ужитку до сьогодні. Спостереження Р. Гука підтвердили і розширили такі мікроскопісти XVII ст., як М. Мальпігі, Н. Грю і А. Левенгук.

У кінці XVIII ст. були вдосконалені лінзи мікроскопа, і Ф. Елінус сконструював ахроматичний мікроскоп, який надав поштовх для подальшого вивчення біологічних об'єктів.

У 1931 р. Еметом Руска сконструював електронний мікроскоп, де для отримання зображення використовується потік електронів, який має значно коротшу довжину хвилі, ніж світловий мікроскоп. Це був суттєвий крок уперед у техніці мікроскопіювання.

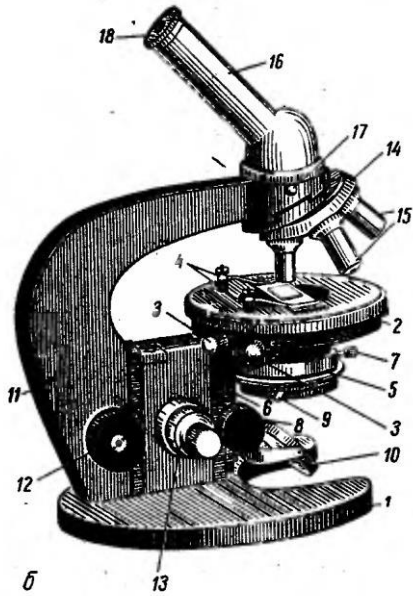
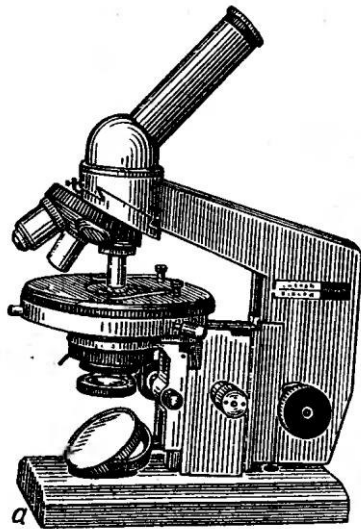


Рис. 1.1 Мікроскопи: а – загальний вигляд мікроскопа “Біолам”; б – схема мікроскопу МБР-1: 1 – основа мікроскопу; 2 – предметний столик; 3 – гвинти для переміщення предметного столика; 4 – клєми (затискачі); 5 – конденсор; 6 – кронштейн конденсора; 7 – гвинт, що закріплює конденсор у гільзі; 8 – гвинт переміщення конденсора; 9 – гвинт переміщення ірисової частини конденсора; 10 – дзеркало; 11- тубусотримач; 12 – макрометричний гвинт; 13 – мікрометричний гвинт; 14 – револьвер-пластинка; 15 – об’єктиви; 16 – тубус; 17 – гвинт для кріплення тубусу; 18 – окуляр.

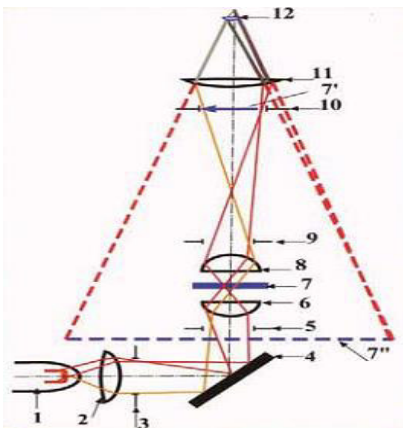


Рис. 2 Принципова схема мікроскопу та освітлювальної частини: 1 - джерело світла; 2 – колектор; 3 – ірисова польова діафрагма; 4 – дзеркало; 5 – ірисова апертурна діафрагма; 6 – конденсор; 7 – препарат; 7' – збільшене дійсне проміжне зображення препарату, яке створює об’єктив; 7'' – збільшене мінімальне кінцеве зображення препарату, що спостерігається в окулярі; 8 – об’єктив; 9 – вихідний значок об’єктиву; 10 – польова діафрагма окуляра; 11 – окуляр; 12 – око.



Рис. 1.3 Структурно-логічна схема будови світлового мікроскопа: А – будова; Б – призначення.

Правила роботи з мікроскопом

1. Мікроскоп зберігають захищеним від вологи, пилу та світла. При перенесенні мікроскоп беруть правою рукою за колонку штатива, а лівою підтримують знизу.

2. Окуляр, об'єktiv, дзеркало протріть серветкою. Поставте мікроскоп перед собою ближче до лівого плеча. Праворуч від мікроскопа покладіть альбом.

3. Вивчення будь-якого об'єкта починають з малого збільшення. Поставте в робоче положення об'єktiv малого збільшення (x8). Для цього повертайте револьвер, поки потрібний об'єktiv не займе центроване положення (над отвором предметного столика), про що буде свідчити легке клацання спеціального пристрою револьвера.

4. Підніміть за допомогою макрогвинта об'єktiv над предметним столиком на висоту 0,5 см. Відкрийте діафрагму і підніміть конденсор.

5. Дивлячись в окуляр (лівим оком), поверніть дзеркало в напрямку до джерела світла, поки поле зору не буде освітлено яскраво і рівномірно.

6. Покладіть на предметний столик препарат з перехрещених волосин накривним скельцем догори, щоб об'єкт знаходився в центрі отвору предметного столика.

7. Потім під контролем зору повільно опустіть тубус за допомогою макрометричного гвинта, щоб об'єktiv знаходився на відстані біля 2 мм від препарату.

8. Дивіться в окуляр і одночасно повільно піднімайте тубус за допомогою макрогвинта, поки в полі зору не з'явиться зображення об'єкта. Запам'ятайте, що фокусна відстань для об'єктива малою збільшення дорівнює приблизно 0,5 см.

9. Щоб перейти до розглядання об'єкта при великому збільшенні мікроскопа, необхідно відцентрувати препарат, тобто помістити точку перехрещення волосин точно в центр поля зору. Для цього, дивлячись в окуляр, пересувайте препарат руками, поки він не займе необхідне положення. Якщо об'єкт не буде відцентрований, то при великому збільшенні точка перехрещення волосин залишиться поза полем зору.

10. Поворотом револьвера за годинниковою стрілкою переведіть в робоче положення об'єktiv великого збільшення (x40). Опустіть тубус під контролем ока (дивіться, як опускається тубус, не в окуляр, а збоку) майже до препарату. Запам'ятайте, що фокусна відстань для об'єктива великого збільшення дорівнює приблизно 1 мм!

11. Дивлячись в окуляр, повільно (!) піднімайте тубус, поки в полі зору не з'явиться зображення. Застосовуючи мікрометричний гвинт, потрібно одержати контрастне зображення волосин. Мікрометричний гвинт можна повертати не більше, як на півоберта. Якщо не видно зображення волосин під великим збільшенням, це означає, що препарат був не відцентрований або пропущена фокусна відстань. У цьому випадку перейдіть знову до малого збільшення і виконайте пункти 9-11.

12. При малюванні препарату дивіться в окуляр лівим оком, а в альбом - правим.

Методика приготування тимчасових препаратів

Для приготування тимчасових мікропрепаратів потрібні предметні і накривні скельця. Старанно протріть їх серветкою (будьте обережні з ламким накривним скельцем, тримайте його двома пальцями за грані). Відріжте ножицями частину волосини довжиною біля 3 см, розріжте навпіл і покладіть на предметне скельце. Нанесіть з піпетки на волосину краплю води і накрійте об'єкт накривним скельцем. Навчіться накривати його так, щоб під накривним скельцем не утворилися пухирці повітря. Для цього з положення під кутом торкніться накривним скельцем краю краплі води, а потім обережно опустіть його на предметне скельце.



Навчіться також нанести краплю води такого об'єму, щоб вона повністю заповнила простір під накривним скельцем. Дуже мала крапля рідини не заповнить весь простір, і пухирці повітря будуть ускладнювати роботу. Взнявши занадто велику краплю, ви побачите, що вода виступає за межі накривного скельця. У цьому випадку надлишок води потрібно вибрати смужкою фільтрувального паперу.

Розгляньте препарат спочатку при малому, а потім при великому збільшенні мікроскопа і замалюйте.

Для роботи необхідні:

Мікроскоп, предметні і накривні скельця, піпетки, фільтрувальний папір

Питання для самоконтролю:

1. З яких основних частин складається мікроскоп?
2. Назвіть правила роботи з мікроскопом.
3. Ким, коли і на якому об'єкті була відкрита клітина?

Лабораторна робота №2

Тема: БУДОВА РОСЛИННОЇ І ТВАРИННОЇ КЛІТИНИ

Мета роботи: Ознайомитись з будовою рослинної і тваринної клітини. Вияснити достовірність основних положень клітинної теорії.

Завдання:

1. Приготувати препарати:
 - а) з листочка водної рослини елодеї чи валіснерії;
 - б) з шкірочки м'якшої частини цибулини;
 - в) з листочка традесканції.
2. Роздивитись кожний препарат під мікроскопом при малому, а потім при великому збільшенні.
3. Розглянути на готових препаратах і таблицях будову тваринної клітини.
4. Після детального вивчення препаратів замалювати декілька рослинних клітин (4-5) шкірочки цибулини, листка елодеї, тваринної клітини з позначенням їх складових частин.
5. Вияснити достовірність основних положень клітинної теорії.

Основні поняття

Клітина є основною структурною і функціональною одиницею живих організмів, яка здійснює ріст, розвиток, обмін речовин та енергії, зберігає. Переробляє та реалізує генетичну інформацію. Клітина являє собою складну систему біополімерів, яка відокремлена від зовнішнього середовища плазматичною мембраною (цитолемою) і складається з ядра та цитоплазми, де розташовуються органели та включення.

Основними функціональними структурами клітини є її поверхневий комплекс, цитоплазма та ядро (рис. 2.1).

Поверхневий комплекс включає в себе *глікокалікс*, *плазматичну мембрану (цитолему)* та *кортикальний шар цитоплазми*. Неважко помітити, що чіткої межі поверхневого комплексу від цитоплазми немає.

У **цитоплазмі** виділяють *гіалоплазму (матрикс, цитозоль)*, органели і включення.

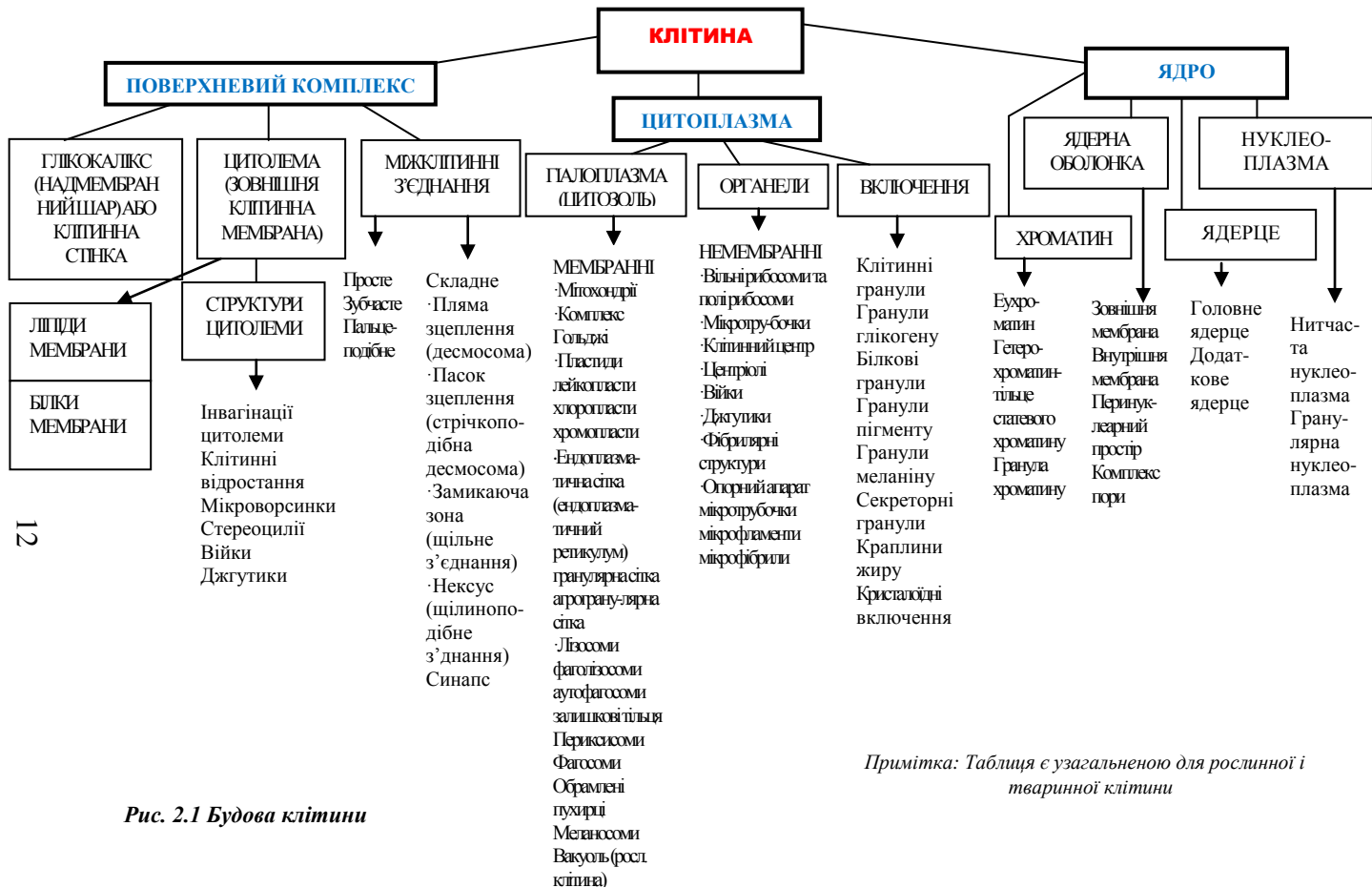


Рис. 2.1 Будова клітини

Примітка: Таблиця є узагальненою для рослинної і тваринної клітини

Основними структурними компонентами **ядра** є *каріолема* (*каріотека*), *нуклеоплазма* та *хромосоми*; петлі деяких хромосом можуть переплітатись і в цій області утворюється *ядерце*.

Цитолема, каріолема та частина органел утворені біологічними мембранами.

Основними відмінними ознаками рослинної і тваринної клітини є відсутність в тваринній клітині вакуолей, пластид і клітинної стінки (рис. 2.2).

Наявність пластид з хлоропластами і хлорофілом дає можливість рослинній клітині синтезувати органічну речовину (крохмаль) при допомозі процесу фотосинтезу. Тому рослини в основному мають атрофічний спосіб живлення.

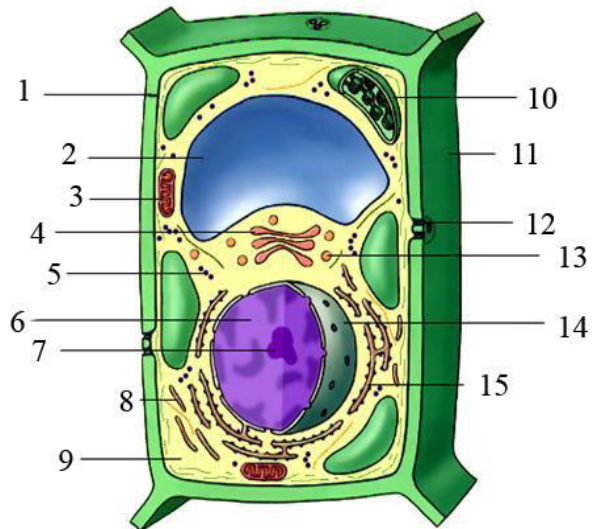
Цитоплазма - це напіврідка, в'язка, без кольору маса, яка має властивості колоїдного розчину. Основними речовинами, які входять в її склад є колоїдно-органічні сполуки: білки, вуглеводи, жири, ліпіди (жироподібні речовини), РНК, вода і деякі інші речовини.

Кількість води в цитоплазмі змінюється на протязі вегетації рослин. Цитоплазма складається з 3-х шарів: плазмолема –тоненької плівки, яка прилягає до клітинної оболонки; мезоплазми, складаючої основну масу цитоплазми, і на кінець тонопласта – внутрішньої тоненької плівки, яка обтягує вакуоль і регулює обмін речовин між мезоплазмою і клітинним соком вакуолі.

Цитоплазмі властиві фізіологічні функції: живлення, дихання, рух, подразливість, обмін речовин, розмноження. Рухається цитоплазма постійно, але іноді це важко помітити. Вона допомагає переміщенню ряду речовин з однієї клітини в іншу. Важливими властивостями цитоплазми являються: в'язкість і напівпроникність.

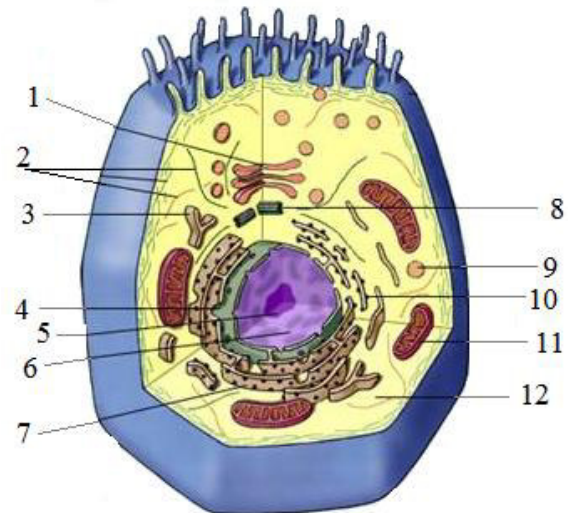
Колоїди цитоплазми здатні ставати більш в'язкими (гель) і більш рідкими (золь), що допомагає рослині швидко пристосовуватись до змін умов зовнішнього середовища. Висока в'язкість цитоплазми збільшує стійкість рослин до підвищених температур.

Напівпроникністю (здатністю вільно пропускати через себе воду і розчинені в ній речовини) володіють зовнішній шар цитоплазми (плазмолема) і внутрішній (тонопласт). Завдяки напівпроникності в вакуолях можуть накопичуватись речовини, які створюють в клітині високий осмотичний і тургонний тиск.



Рослинна клітина:

1 - клітинна оболонка; 2 - вакуоля; 3 - мітохондрії; 4 - апарат Гольджі; 5 - рибосоми; 6 - ядро; 7 - ядрце; 8 - гладка ендоплазматична сітка; 9 - цитоплазма; 10 - хлоропласти; 11 - плазматична мембрана; 12 - плазмодесми; 13 - лізосоми; 14 - оболонка ядра; 15 - гранулярна ендоплазматична сітка.



Тваринна клітина:

1 - апарат Гольджі; 2 - цитоскелет; 3 - гладка ендоплазматична сітка; 4 - оболонка ядра; 5 - ядрце; 6 - ядро; 7 - гранулярна ендоплазматична сітка; 8 - мікроворсинки; 9 - плазматична мембрана; 10 - центріолі; 11 - лізосоми; 12 - рибосоми; 13 - мітохондрії; 14 - цитоплазма.

Рис. 2.2 Порівняльна характеристика будови рослинної та тваринної клітини

Будова і функції складових частин клітини

Ядро - має оболонку з двох мембран, які пронизані ядерними парами і хроматин (в такій формі розкручені хромосоми знаходяться в інтерфазі). Є ще ядерний сік і ядерце. Розміри його не більше 2-20 мкм.

Ф у н к ц і ї – хромосоми містять ДНК, а це речовина спадковості. Ділення ядра лежить в основі розмноження клітин. В ядерці утворюються р и б о с о м и.

Плазматична мембрана складається з трьох шарів - в центрі мембрани ліпідний бішар, а по боках білкові шари.

Ф у н к ц і ї - одна з основних властивостей біологічної мембрани - її вибіркова проникність (напівпроникність) - одні речовини проходять через неї важко, інші легко і навіть в бік більшої концентрації. Так, для більшості клітин концентрація іонів Na^+ всередині клітини значно нижча, ніж у навколишньому середовищі. Для іонів K^+ характерне протилежне співвідношення: їхня концентрація всередині клітини вища, ніж зовні. Через це іони Na^+ завжди намагаються проникнути в клітину, а іони K^+ - вийти назовні. Вирівнюванню концентрацій цих іонів перешкоджає дія особливої системи клітинної мембрани, яка виконує роль насоса, що відкачує іони Na^+ із клітини і одночасно накачує іони K^+ всередину (так званий натрій-калієвий насос).

Прагнення іонів до переміщення всередину використовується для транспорту цукрів і амінокислот в клітину. При активному видаленні іонів Na^+ з клітини створюються умови для надходження глюкози і амінокислот всередину неї.

У багатьох клітин поглинання речовин відбувається також шляхом фагоцитозу і піноцитозу. При фагоцитозі гнучка зовнішня мембрана утворює невеликі заглибини, куди потрапляє захоплювана тверда частинка. Це заглиблення поступово збільшується, стає глибшим, і частинки, які потрапили в неї, занурюються в середину клітини. Явище фагоцитозу властиве амебам і деяким іншим найпростішим, також лейкоцитам (фагоцитам). Аналогічно відбувається поглинання клітинами і рідин, які містять необхідні клітинні речовини. Це явище назване піноцитозом (гр. сл. піно - п'ю, цитос – клітина). Для клітинної мембрани характерна також дифузія – рух газів, наприклад при диханні, осмос – рух води з розчиненими в ній речовинами в

клітину, а також екзоцитоз - видалення з вакуолей неперетравлених частин.

Ендоплазматична сітка - система мембранних мішечків у вигляді трубочок і пластинок, які утворюють єдине ціле з зовнішньою мембраною ядерної оболонки.

Ф у н к ц і ї. Якщо поверхня ендоплазматичної сітки покрита рибосомами, то її називають шорховатою. На рибосомах синтезується білок, який транспортується по цистернах ендоплазматичної сітки. Гладка ендоплазматична сітка (без рибосом) служить місцем синтезу ліпідів і стероїдів.

Рибосоми. Містять білок і РНК (65% всієї РНК клітини) в рівних кількостях. Їх знайшли в мітохондріях і в хлоропластах рослин.

Ф у н к ц і ї. На рибосомах синтезується білок.

Мітохондрії. Мають оболонку з двох мембран. Зовнішня мембрана гладенька, а внутрішня утворює складки – кристи. Містять мітохондрії і матрикс, де є рибосоми, одну кільцеву молекулу ДНК і фосфатні гранули.

Ф у н к ц і ї. Мітохондрії – енергетичні станції клітини. Внаслідок дихання відбувається розклад речовин з утворенням енергії. В кристах при аеробному диханні проходить окислювальне фосфорилування і перенос електронів, а в матриксі працюють ферменти, які приймають участь в циклі Кребса (цикл лимонної кислоти) і в окисленні жирних кислот. Синтезується на рибосомах і білок.

Апарат Гольджі. Це стопка мембранних мішечків. На одному кінці стопки мішечки безперервно утворюються, а з другого підшнуровуються у вигляді бульбашок.

Ф у н к ц і ї. Транспорт. Клітинні матеріали, наприклад ферменти і ендоплазматична сітка модифікуються в цистернах і транспортуються у бульбашках. Синтез лізосом.

Лізосоми. Сферичний мембранний мішечок, який заповнений перетравлювальними ферментами (мембрана одинарна).

Ф у н к ц і ї. Перетравлення поживних речовин і клітинних компонентів, які відслужили свій строк.

Клітинна стінка. Жорстка клітинна стінка складається з целюлозних волокон.

Ф у н к ц і ї. Забезпечує механічну опору і захист клітини. Завдяки їй в клітині виникає тургорний тиск, не допускає осмотичного розриву клітини.

Хлоропласти. Це велика пластида, що містить в собі хлорофіл. В хлоропластах проходить фотосинтез. В хлоропластах є оболонка, яка складається з двох мембран. Хлоропласти заповнені строною. В стромі знаходиться система мембран зібраних в стопки(мал.2), які з'єднуються між собою ламетами. В стромі може відкладатися крохмаль, крім того в ній є рибосоми, ДНК і крапельки масла.

Лейкопласти – без кольору, хлоропласти – зелені, хромопласти – жовті, червоні і т. д.

Ф у н к ц і ї. Фотосинтез з утворенням вуглеводів з води, CO_2 і сонячної енергії. В хлоропластах сонячна енергія перетворюється в хімічну енергію, тобто енергію хімічних зв'язків.

Плазмодесми. Тонка цитоплазматична нитка, що поєднує цитоплазму двох сусідніх клітин через тонку пору в клітинній стінці.

Ф у н к ц і ї. Об'єднує протопласти сусідніх клітин в єдину безперервну систему, по якій проходить транспорт речовин між клітинами.

Вакуолі - мішок, обтягнутий одинарною мембраною, яку називають тонопластом. У вакуолях знаходиться клітинний сік, де є мінеральні солі, цукри (вуглеводи), пігменти, органічні кислоти і ферменти.

Ф у н к ц і ї. Тут зберігаються різноманітні речовини, в тому числі і кінцеві продукти обміну. Від вмісту вакуолей залежать осмотичні властивості клітини. В клітині є ще різні включення.

Таким чином, клітина має цілий комплекс, що допомагає їй функціонувати як єдиному цілому організмові. Ядро – передача спадковості, рибосоми – синтез білка, мітохондрії – енергетичні станції, вакуолі - осмос, хлоропласти – фотосинтез, апарат Гольджі, ендоплазматична сітка – транспорт, лізосоми – перетравлення, плазмодесми – зв'язок між клітинами, плазматична мембрана – обмін між клітиною і середовищем.

Хід роботи:

1. В м'ясистій лусочці цибулини з випуклої сторони вирізати в радіальному напрямку невеликий кусочок. Потім препарувальною голочкою або пінцетом відділити кусочок шкірочки в декілька квадратних міліметрів. Нанести на предметне скельце і виготовити тимчасовий препарат. Спочатку шкірочку цибулини розглядаємо під малим, а потім під великим збільшенням.

Шкірочка цибулини являє собою покривну тканину, яка складається з шару продовгуватих клітин щільно прилягаючих одна до одної. Після розгляду препарату в такому стані, його слід закрасити розчином йоду в йодистому калії. Клітини шкірочки цибулини замалювати.

2. Свіжий листок елодеї або валіснерії треба відірвати і покласти нижньою частиною на предметне скло в краплю води, накрити покривним скельцем. Спочатку препарат розглядають при малому, а потім при великому збільшенні. При великому збільшенні ми можемо розглянути хлорофілові зерна округлої або овальної форми. В краєвих клітинах листка, де мало хлорофілових зерен і вони маленькі, можна розглянути також вакуолю, ядро і цитоплазму.

Клітини з хлорофіловими зернами і органоїдами замалювати.

3. На готових препаратах і таблицях розглянути будову тваринної клітини. Замалювати будову тваринної клітини.

Для роботи необхідні:

1. Цибулина.
2. Водна рослина елодея або валіснерія.
3. Розчин йоду.
4. Готові препарати тваринних клітин.

Питання для самоконтролю:

1. Назвіть основні складові частини рослинної і тваринної клітини. Яка між ними різниця?
2. З яких елементів складається поверхневий комплекс клітин?
3. Яка будова і які основні фізіологічні функції цитоплазми і клітинної оболонки.
4. Будова і функції ядра.
5. Назвіть основні структурні компоненти ядра.
6. Будова та функції хлоропластів та лейкопластів.
7. Роль мітохондрій і рибосом в клітині.
8. Чим заповнена вакуоля?
9. Назвіть органели та включення цитоплазми.
10. Назвіть мембранні та немембранні органели клітин.

Лабораторна робота №3

Тема: АНАТОМІЧНА БУДОВА ТКАНИН РОСЛИННОГО ОРГАНІЗМУ

Мета роботи: Ознайомитись на готових і приготовлених препаратах з будовою і функціями тканин рослинного організму. Розглянути тканини стебла і листків.

Завдання:

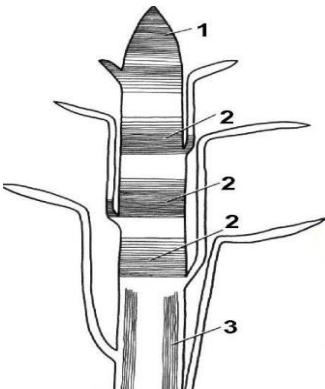
1. Користуючись готовими препаратами і таблицями ознайомитись з будовою і функціями рослинних тканин стебла і листків.
2. Приготувати препарати і розглянути під мікроскопом (при малому збільшенні):
 - зрізу стебла водної рослини елодеї
 - нижньої поверхні листка кімнатної рослини традесканції.

Основні поняття

Тканина - це сукупність клітин, що мають спільне походження, однакову форму і виконують одну і ту ж саму функцію.

Залежно від виконуваної функції виділяють такі типи тканин: твірна, провідна, механічна, покривна, основні. Покривна, провідна, механічні і основні тканини (постійні тканини) рослини виникають із твірної тканини, клітини якої безперервно діляться і дають початок постійним тканинам.

1. Твірна тканина (меристема) складається з живих клітин невеликого розміру з тонкою оболонкою і великим ядром, які щільно прилягають одна до одної без міжклітинних просторів (рис. 3.1).



За розташуванням на рослині розрізняють верхівкові, бокові та вставні твірні тканини. *Верхівковою* (апикальною) називається твірна тканина верхівки стебла (конус наростання), верхівки кореня (зона ділення), верхівок їхніх бокових відгалужень.

Рис. 3.1 Схема розташування меристем: 1 – апікальні меристеми; 2 – інтеркалярні меристеми; 3 – латеральні меристеми.

Бічна - закладається всередині стебла і кореня і зумовлює ріст коренів і стебел в товщину.

Вставна (інтеркалярна) буває в певних ділянках стебла (наприклад, при основі меживузля злакових рослин). Її клітини забезпечують вставний або інтеркалярний ріст стебла.

За походженням твірні тканини бувають первинними і вторинними. Первинна твірна тканина зумовлює розвиток проростка і первинний ріст органів. Вторинна твірна тканина виникає з первинної. До неї відноситься, наприклад камбій (рис. 3.1) ділення клітин якого зумовлює ріст стебла і кореня в товщину у дводольних рослин.

2. Провідна тканина - тканина, по якій вода та інші речовини переміщуються по рослині. До її складу входять судини (трахеї), трахеїди і ситовидні трубки (рис. 3.2).

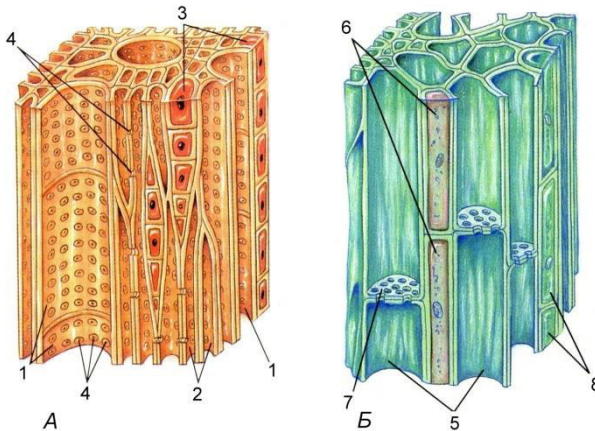


Рис. 3.2 Провідні тканини. А – ксилема; Б - флоема

1 – судини ксилеми; 2 – трахеїди; 3 – клітини деревної паренхіми; 4 – пори; 5 - ситовидні трубки; 6 – клітини-супутниці; 7 – ситовидні поля; 8 – клітини лубної паренхіми.

Судини (трахеї) - це довгі трубки, що формуються з багатьох, розміщених одна над одною клітин, поперечні стінки яких руйнуються. Вони мають товсті стінки, цитопlasма відмирає.

Трахеїди - видовжені мертві клітини з косими поперечними перетинками, якими вони з'єднуються одна з одною, утворюючи суцільний ланцюг. Здерев'яніння стінок нерівномірне і має вигляд кілець, спіралей, сіток. По трахеях і трахеїдах здійснюється висхідна

течія води і розчинених в ній мінеральних солей від коренів до наземних частин рослин.

Ситовидні трубки - видовжені, живі клітини, які з'єднуються між собою за допомогою поперечних перетинок з великою кількістю пор і нагадують сито (ситовидна пластинка). По ситовидних трубках рухаються органічні речовини від листків до кореня. Часто, поряд з ситовидними трубками розташовані клітини- супутники, функції яких в тому, що в них утворюються ферменти, АТФ, інші активні речовини, які мають важливе значення в процесі обміну речовин і транспорту органічних сполук по ситовидних трубках.

3. Механічна тканина (рис. 3.3) складається як з живих, так і з мертвих клітин з потовщеними оболонками.

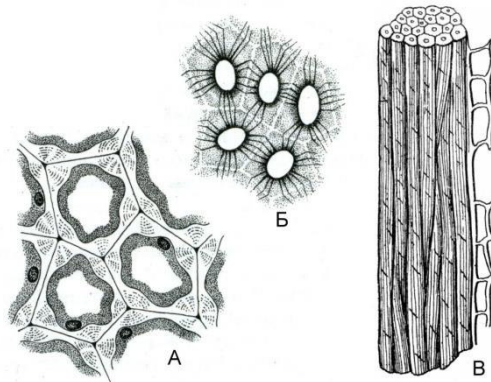


Рис. 3.3 Механічні тканини рослин: А – товстостінні кам'яні клітини, з яких складається шкаралупа горіхів; Б – клітини коленхіми, з яких складаються опорні тканини гілок та стебел; В – волокна склеренхіми

В рослин часто зустрічаються комплекси провідних клітин і волокон механічної тканини. Ці комплекси називають судинно-волоконистими або провідними пучками (рис. 3.4).

Основними частинами пучка являються: деревина (ксилема) і луб (флоема). Деревина складається з трахей, трахеїд і живих паренхімичних клітин (деревинних волокон).

Луб (флоема) – складається з ситовидних трубок і луб'яної паренхіми. Навколо цих компонентів пучка розташовуються клітини механічної тканини (склеренхіма), які значно змінюють його.

Провідні пучки виникають в меристематичних зонах із прокамбію (первинної меристеми), який диференціюється із меристеми конусу наростання.

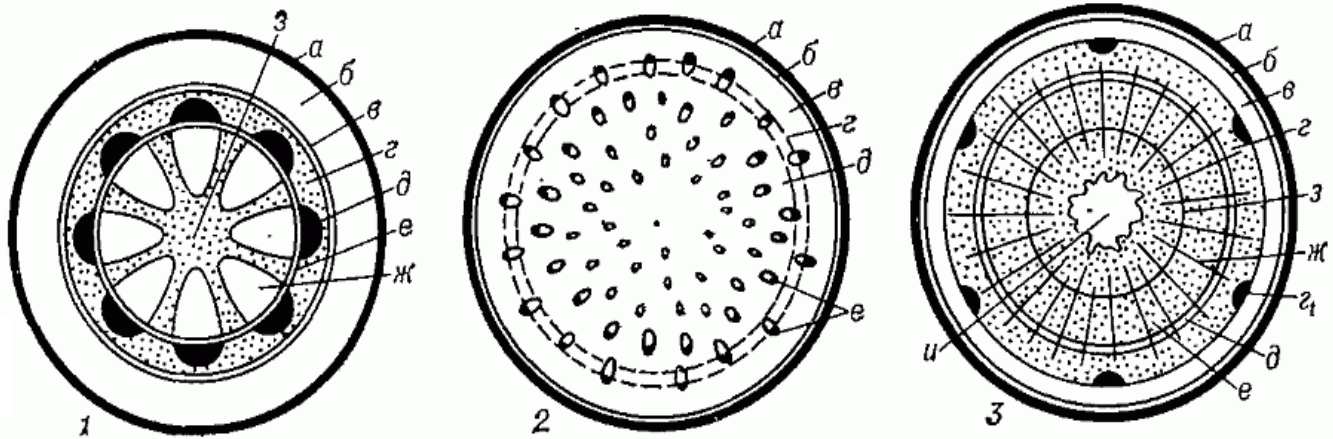


Рис. 3. 4 Анатомічна будова стебла. 1 - первинне: а - епідерма; б - первинна кора; в - ендодерма, г - перецикл; д - флоема; е - камбій; ж - ксилема; з - сердцевина; 2 - вторинне (у однодольних рослин): а - пробка; б - фелоген; в - корок; г - поле твірної тканини; д - деревинна паренхіма; е - судинно-волокнисті пучки; 3 - вторинне (у дводольної рослини): а - пробка; б - фелоген; в - фелодерма; г - вторинна флоема; г₁ - первинна флоема; д - камбій; е - ксилема; ж - серцеподібні промені; з - межі між річними кільцями; и - сердцевина.

Прокамбій функціонує в рослині не довго. Через деякий час поділ його клітин припиняється і вони або всі перетворюються в елементи ксилеми і флоеми, або між флоемою і ксилемою залишається ряд прокамбіальних клітин, які стають вторинною меристемою – камбієм. Клітини камбію діляться паралельно до поверхні рослини, і пучок може рости за рахунок утворення вторинної флоеми і ксилеми.

Пучки, які мають камбій, називаються відкритими (дводольні рослини), а які його не мають – закритими (однодольні рослини).

Основними механічними тканинами є коленхіма і склеренхіма. Коленхіма – жива механічна тканина. Вона зустрічається під епідермісом стебел дводольних рослин. Найбільше значення в усіх органах рослин має склеренхіма. Вона складається з мертвих видовжених клітин, які мають товсті і здерев'янілі клітинні стінки.

Склеренхіма в стеблах прядильних культур (льон, коноплі і ін.) називається луб'яними волокнами, які використовуються в текстильній промисловості.

4. Покривна тканина - це шкірка (епідерма) і корок. Клітини епідермісу живі, вкривають орган одним шаром, зверху часто вкриті кутикулою або шаром жироподібних речовин і мають волоски.

Базисні епідермальні клітини (рис. 3.5) живі, щільно зімкнені, з центральною вакуолею, заповненою клітинним соком, який містить пігменти антоціан (пелюстки волошки синьої, оплодень смородини чорної, винограду, брусниці, листки традесканції забрини, цикламену), антофеїн, антохлор (віночок льонку звичайного), гесперидин (оплодень апельсина) тощо.

Клітини корку - мертві, утворюють багато шарів не мають міжклітинників, заповнені повітрям або смолянистими чи дубильними речовинами. Виконують основні захисні функції: захист органів від випаровування, висихання, охолодження, різких пошкоджень.

Разом з тим клітини епідермісу забезпечують газообмін (продихи в листках) і всмоктування води з розчиненими в ній речовинами (кореневі волоски в коренях).

5. Основну тканину називають *паренхіма*. Основна тканина рослин складається з клітин майже однакового розміру по всіх напрямках. Клітки паренхіми утворюють однорідні скупчення в тілі рослини, заповнюють простори між іншими тканинами, входять до складу провідних і механічних тканин.

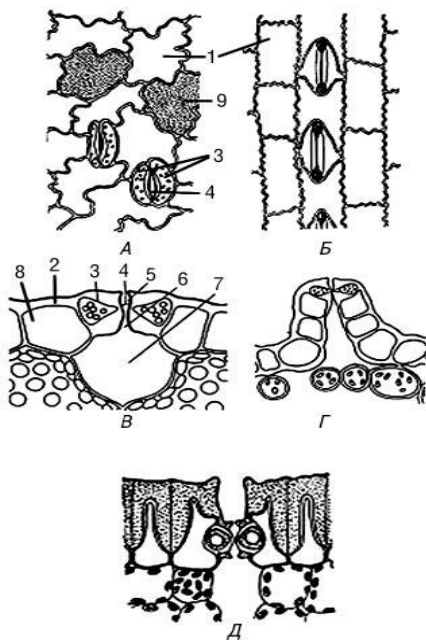


Рис. 3.5 Епідерма у плані (а, б) та на поперечних розрізах (в, з, Д): а - фрагмент епідерми дводольної рослини; б - фрагмент епідерми однодольної рослини; в - продиhi не виступають; з - продиhi виступають; д - продиhi занурені; 1 - епідермальні клітини; 2 - кутикула; 3 - замикальні клітини продиhив; 4 - продиhова щілина; 5 - зовнішній дворик; 6 - внутрішній дворик; 7 - повітряносна порожнина; 8 - побічні клітини; 9 - секреторні клітини.

Унаслідок функціональної спеціалізації протопластові клітини паренхіми можуть виконувати асиміляційну, видільну і ін. функції. Присутність в паренхімі міжклітинників визначає її участь в газообміні. Паренхімні клітини, що виконують опорну

функцію, можуть бути подовженими, гіллястими, зірчастими, вони мають товсті стінки, що часто одеревіли. Живі паренхімні клітини здібні до ділення; у паренхімі закладається фелоген (пробковий камбій), а в рослин з атипичним приростом в товщину - камбій (коренеплоди буряка, деякі ліани) (рис. 3.4).

Розрізняють три групи основних тканин: асиміляційну, запасуючу і повітроносну (аеренхіму).

Асиміляційна тканина розташовується у всіх зелених частинах рослин. В листку, наприклад вона представлена стовпчастою або палисадною і губчастою або рихлою паренхімою, в яких здійснюється процес фотосинтезу. Клітини губчастої паренхіми виконують також функції транспірації і газообміну.

Основна запасуюча тканина заповнює м'які частини листків, плодів, серцевину стебел та коренів. У її клітинах відкладаються на запас поживні речовини. Наприклад, крохмаль в бульбах картоплі.

Основна повітроносна тканина - багата міжклітинними проміжками, які заповнені повітрям (рис.3.5). Міжклітинники, сполучаючись у загальну сітку забезпечують газообмін рослин.

Тканини стебла

По стеблу рослини проходить рух води, органічних і мінеральних речовин; це орган вегетативного розмноження (смородина, малина і ін.); в стеблі часто запасуються органічні сполуки (капуста, стебла кущів і дерев); в соковитих стеблах тропічних рослин (кактус) запасується вода, яка використовується в засушливий період року і ін.

В стеблі однодольних рослин (кукурудза) розрізняють тканини:

а) епідерміс - покривна тканина, яка складається з живих клітин, розташованих в один шар. Зовні клітини епідермісу вкриті кутикулою і часто мають волоски;

б) склеренхіма, яка знаходиться під епідермісом і надає стеблу міцності - механічна тканина;

в) паренхіма, яка знаходиться за механічною тканиною і в якій знаходяться судинно-волокнисті пучки – основна тканина;

г) судинно-волокнисті пучки зовні оточені клітинами склеренхіми (механічна тканина), а всередині розміщена провідна тканина - судини деревини (ксилема) і ситовидні трубки луба (флоема).

Судини деревини на поперечному розрізі мають вигляд білих кілець, оточених товстими здерв'янілими стінками.

Ситовидні трубки луба на поперечному розрізі мають вигляд великих багатокутних клітин, між якими розміщені невеликі супроводжуючі клітини (клітини-супутниці), заповнені цитоплазмою оболонки ситовидних трубок і клітин-супутниць нездерв'янілі.

Ріст стебла в однодольних (особливо злакових) вставний або інтеркалярний. Твірна тканина знаходиться в основі меживузлів.

Будова стебла пшениці (соломини) відрізняється від стебла кукурудзи наявністю в ньому порожнини.

В стеблі дводольних рослин (конюшина) на відміну від однодольних, судинно-волокнисті пункти відкриті. Завдяки діяльності пучкового і міжпучкового камбію стебло росте в товщину, відкладаючи назовні елементи флоєми, а в середину - елементи ксилеми.

Тканини листка

В листку проходить фотосинтез, випаровування води (транспірація) і газообмін. Крім цих основних функцій в результаті адаптацій до різних умов існування листки, видозмінюючись, можуть нагромаджувати поживні речовини (цибуля, капуста), воду (алое), захищати від поїдання тваринами (колючки), здійснювати вегетативне

розмноження (бегонія, фіалка), рухати і закріплювати слабкі стебла (вусики гороху, вики) і ін.

В листку розрізняють наступні тканини: живі безколірні клітини шкірочки (епідермісу), які містять цитоплазму і ядро, розташовані одним шаром з потовщеними оболонками складають покривну тканину.

У шкірці знаходяться 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 продихових клітин змінюють їхню форму, завдяки чому продихова щілина буває відкритою, звуженою або повністю закритою в залежності від умов зовнішнього середовища. Так, вдень продихи відкриті, а вночі в жарку суху погоду - закриті. Роль продихів полягає в регуляції випаровування води рослиною і газообміні з навколишнім середовищем.

Між нижньою і верхньою шкірочками листової пластинки розташовуються м'якоть листка (мезофіл). Під верхньою шкірочкою знаходиться один або декілька шарів крупних прямокутних клітин, які мають хлоропласти. Це стовпчаста або палісадна перенхіма - *основна асиміляційна тканина*, в якій здійснюється процес фотосинтезу. Під палісадною перенхімою знаходиться кілька шарів клітин неправильної форми з великими міжклітинниками. Ці шари клітин утворюють губчасту або рихлу паренхіму. В клітинах губчастої паренхіми є менше хлоропластів. Вони виконують функції транспірації, газообміну і запасання поживних речовин. М'якоть листка пронизана густою сіткою жилок, судинно-волокнистих пучків, які здійснюють постачання листка водою і розчиненими в ній речовинами, а також виведення із листка асимілянтів. Крім того жилки виконують і механічну роль, оскільки зовні вони оточені склеренхімою - *механічною тканиною*. Будова судинно-волокнистих пучків (*провідна тканина*) основних жилок листка типова, оскільки це є продовження їх із стебла, але в міру подрібнення пучків спостерігається зменшення судин та ситовидних трубок. У найдрібніших розгалуженнях жилок зовсім відсутня флоема, спрощується і ксилема - в ній немає трахей, залишається невелика кількість трахеїд. Закінчуються жилки поодинокими трахеїдами.

Хід роботи:

1. Розгляд поперечного розрізу стебла

Для полегшення вивчення поперечного розрізу стебла зріз закрашують, помістивши його в розчин сірчанокислоного аніліну або флороглюцину, від дії якого здерев'янілі частини забарвлюються в жовтий колір.

Розглядаючи препарат під мікроскопом, можна помітити, що стебло зверху вкрите епідермісом, під яким знаходиться механічна тканина - склеренхіма, яка лежить суцільним кільцем. За кільцем механічної тканини лежить основна паренхіма, в якій знаходяться судинно-волокнисті пучки провідної тканини. Біля краю стебла пучки невеликі, а до центру більші і рідші.

Препарат слід розглянути спочатку на малому, а потім при великому збільшенні, замалювавши (схематично) розміщення тканин і судинно-волокнистих пучків стебла.

2. Розгляд поздовжнього розрізу стебла

Розглядаючи повздовжній розріз стебла ми побачимо ті ж елементи, що і на поперечному розрізі, але тепер не в горизонтальній, а в вертикальній проекції. Зовні видно шар клітин епідермісу, за якими лежать вузькі і довгі склеренхімні клітини з товстими здерев'янілими оболонками. Загострені кінці клітин щільно входять між кінці інших таких же клітин, утворюючи міцну механічну тканину.

Клітини основної тканини мають вигляд довгих циліндричних клітин з цитоплазмою і ядром. До центру стебла розмір їх збільшується.

Судинно-волокнисті пучки складаються з елементів дуже витягнутих в довжину. З зовнішньої сторони пучка видно перерізані товстостінні склеренхімні клітини, а в центрі - вертикальні ряди мертвих довгих клітин без перетинок. В залежності від характеру потовщення повздовжніх стінок розрізняють судини пористі, кільчасті, спіральні і ін.

Ситовидні трубки мають вигляд широких довгих клітин з тонкими нездерев'янілими оболонками. Розглянувши препарат при малому, а потім при великому збільшенні слід замалювати (схематично) розміщення тканин і судинно-волокнистих пучків. По такій же схемі розглядається будова стебла як однодольних, так і дводольних рослин.

3. Розгляд будови листка в поперечному розрізі

У листовій пластині розрізняють 4 групи тканин:

- 1) покривну - шкірочку або епідерміс;
- 2) основну - поживну (мезофіл);
- 3) провідну - судинно-волокнисті пучки (жили);
- 4) механічну - надає листовій пластині жорсткості і визначає його розміщення у просторі.

Зробивши поперечний зріз листка рослини, приготувати препарат, розглянути у мікроскоп спочатку при малому, потім при великому збільшенні. Схематично замалювати розміщення тканин.

4. Розгляд епідермісу нижньої частини листка традесканції

З нижньої сторони листка традесканції зрізуємо скальпелем частину епідермісу. Розглянувши епідерміс при малому, а потім при великому збільшенні, слід замалювати клітини епідермісу і продихи з замикаючими клітинами (рис. 3.5).

Для роботи необхідні:

1. Мікроскоп, предметні, покривні скельця, скальпель, препарувальні голки.
2. Розчин флороглюцину або сірчанокиислового аніліну з соляною кислотою.
3. Молоді стебла кукурудзи, пшениці, конюшини витримані в спирті.
4. Готові препарати поперечного і повздовжнього розрізу стебла.
5. Листки кімнатної рослини традесканції і готові препарати поперечного розрізу листка.

Питання для самоконтролю:

1. Чим відрізняються будовою і ростом стебла однодольних і дводольних рослин?
2. Будова судинно-волокнистих пучків однодольних і дводольних рослин.
3. Які основні функції стебла і листків?
4. В чому роль продихів і як відбувається їх відкриття і закриття?
5. Яка суть процесу фотосинтезу і яка роль в цьому процесі належить листку?

Лабораторна робота №4

Тема: ПЕРВИННА І ВТОРИННА БУДОВА КОРЕНЯ

Мета роботи: Ознайомитись на готових і приготовлених препаратах з анатомічною будовою і функціями тканин кореня.

Завдання:

1. Користуючись готовими препаратами і таблицями ознайомитись з будовою і функціями рослинних тканин основних органів рослин – кореня, стебла і листків.
2. Приготувати препарати і розглянути під мікроскопом (при малому збільшенні) молодий корінець проростка пшениці.
3. Замалювати загальний вигляд корінця в зоні всмоктування та поперечний розріз кореня в центральній частині.

Основні поняття

Корінь - осьовий підземний орган, радіально симетричний. Росте у довжину завдяки поділу і наступному росту клітин верхівкової твірної тканини.

Функції кореня. Корінь закріплює рослину в ґрунті, поглинає з неї воду і мінеральні солі, нагромаджує у клітинах запасні речовини, синтезує ряд життєво важливих для рослини сполук (амінокислоти, гормони, вітаміни й ін.) втягує в ґрунт у багаторічних рослин основи пагонів з бруньками відновлення; проводить розчини поживних речовин по провідних тканинах; дає початок (за наявності придаткових бруньок) новим надземним пагонам, які, віддалившись від материнського організму, стають самостійними рослинами. Рух розчинів по судинах у висхідному напрямку забезпечується так званим кореневим тиском, активним нагнітанням розчинів у судини живими клітинами кореня.

Зони кореня. Верхівка кореня (конус наростання) захищена чохликом (ковпачком), утвореним декількома шарами клітин. Під ковпачком знаходиться зона поділу; над нею - зона активного росту; тут клітини ростуть, значно збільшуючи свої розміри. Потім вони починають змінюватися (диференціюватися) і набувають вигляду і властивостей, що відповідають тій тканині, до складу якої вони увійдуть. Цю частину кореня називають зоною диференціації. За нею,

вище, знаходяться постійні тканини. Це - покривна тканина, або ризодерма, основна і провідна тканини.

Частина клітин ризодерми утворює вирости - кореневі волоски. Завдяки корневим волоскам збільшується всмоктувальна поверхня кореня і зростають його опорні властивості. Ділянка кореня з ризодермою називається зоною всмоктування або зоною корневих волосків. Вище цієї зони покривна всмоктувальна тканина (ризодерма) відмирає і злущується. Однак довжина зони (1-4 мм) не вкорочується, тому що з боку зони диференціації йде її відновлення в міру росту кореня у довжину. За зоною всмоктування, де ризодерма відсутня, захисну функцію виконує зовнішній шар клітин кори - екзодерма. Захисні якості екзодерми підвищуються в результаті окоркування її оболонки; клітини цієї тканини щільно прилягають одна до одної.

За зоною всмоктування розташовані зона галуження (тут відростають бічні корені) і проведення речовин. Між зонами кореня чітких меж немає.

В однодольних така (первинна) будова кореня зберігається на протязі всього життя, а в дводольних проходять вторинні зміни, що полягають в появі між первинною ксилемою і первинною флоемою шару клітин камбію, за рахунок ділення яких корінь потовщується (рис. 4.1).

Первинна будова кореня. Під мікроскопом на поперечному зрізі кореня в зоні всмоктування видно його будову на клітинному і тканинному рівнях. На поверхні кореня - ризодерма, під нею - кора. Зовнішній шар кори - екзодерма, всередині і від неї - основна паренхіма. Її тонкостінні живі клітини виконують запасаючу функцію, проводять розчини поживних речовин у радіальному напрямі - від всмоктувальної тканини до судин деревини. У них же відбувається синтез життєво важливих для рослини органічних речовин. Проведення речовин у корі здійснюється по симпласту (через протопласт клітин) і по апопласту (по міжклітинниках і оболонках клітин). Внутрішній шар кори - ендодерма. Розчини поживних речовин, що поступають із кори в центральний циліндр, через клітини ендодерми проходять тільки по симпласту. Пройти розчинам по апопласту через ендодерму неможливо через відсутність міжклітинників і наявність в ендодермальних клітинах видозмінених оболонки, що не пропускають розчинів.

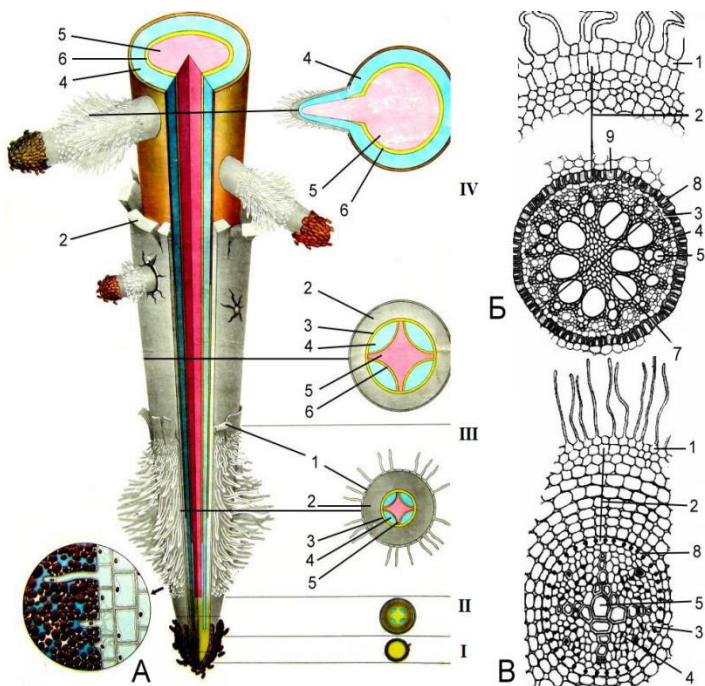


Рис. 4.1. Зони та внутрішня будова кореня: I – зона ділення; II – зона розтягування; III – зона всмоктування; IV – провідна зона. А – первинна і вторинна будова кореня; Б – внутрішня будова кореня однодольної рослини; В – внутрішня будова кореня дводольної рослини. 1 – епідерма; 2 – первинна кора; 3 – перицикл; 4 – флоема; 5 – ксилема; 6 – камбій; 7 – стела; 8 – ендодерма; 9 – пропускні клітини ендодерми.

Кора оточує центральний циліндр кореня. Вона межує з шаром клітин, які довго зберігають здатність до поділу. Це - перицикл. Клітини перициклу дають початок бічним кореням, додатковим брунькам (вони є, наприклад, на коренях обліпихи, осики, осоту польового, малини) і вторинним твірним тканинам (якщо такі закладаються).

Всередині від перициклу, у центрі кореня, знаходяться провідні тканини: луб і деревина. Разом вони утворюють радіальний (за взаємним розташуванням лубу і деревини) провідний пучок.

Вторинна будова кореня. У дводольних і голонасінних рослин вже в ранньому віці в центральному циліндрі кореня між ксилемою і флоемою з'являється камбій, діяльність якого призводить до вторинних змін і в результаті формується вторинна структура кореня.

До центру камбій відкладає клітини *вторинної ксилеми*, а до периферії - клітини *вторинної флоеми*. У результаті діяльності камбію первинна флоема відтісняється назовні, а первинна ксилема залишається в центрі кореня.

Після змін в центральному циліндрі кореня відбуваються зміни в корковій частині. Клітини перициклу починають ділитися по всьому колу, в результаті чого виникає шар клітин вторинної меристеми - *фелогену* (коркового камбію). Фелоген, у свою чергу, ділячись, відкладає назовні фелему, а всередину - фелодерму. Утворюється *перидерма*, корковий шар якої ізолює первинну кору від центрального циліндра. У результаті вся первинна кора відмирає і поступово скидається; зовнішнім шаром кореня стає перидерма. Клітини фелодерми і залишки перициклу надалі розростаються і складають паренхімну зону, яку називають вторинної корою кореня (рис. 4.2).

4.2).

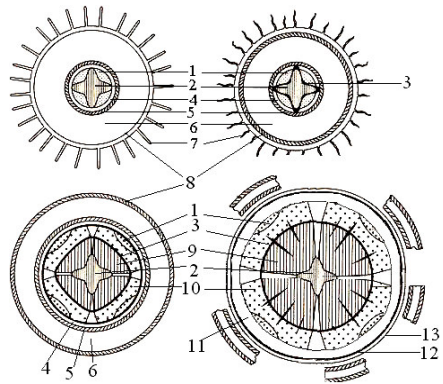


Рис. 4.2. Перехід від первинної будови кореня до вторинної: 1 – первинна флоема; 2 – первинна ксилема; 3 – камбій; 4 – перицикл; 5 – ендодерма; 6 – мезодерма; 7 – ризодерма; 8 – ексодерма; 9 – вторинна ксилема; 10 – вторинна флоема; 11 – вторинна кора; 12 – фелоген; 13 – фелема.

При розвитку запасуючої паренхіми головного кореня відбувається формування запасуючого коріння або коренеплодів. Розрізняють коренеплоди:

- *монокамбіальні* (редька, морква) - закладається тільки один шар камбію, а запасні речовини можуть накопичуватися або в паренхімі ксилеми (ксілемний тип - редька), або в паренхімі флоеми (флоемний тип - морква);
- *полікамбіальні* - через певні проміжки часу відбувається закладення нового шару камбію (буряк).

Хід роботи:

1. За 3-4 дні до виконання лабораторної роботи слід закласти насіння пшениці на пророщування. Для цього можна використати чашки Петрі, на дно якої ложать мокрий фільтрувальний папір або пісок, потім насіння пшениці, яке покривають зверху фільтрувальним папером. Коли появляються корінці довжиною 2-3 см, покриті кореневими волосками, приступають до вивчення кореня під мікроскопом. Для цього відрізають молодий корінець довжиною біля 1 см, кладуть його в краплю води, покривають покривним скельцем і розглядають при малому, а потім при великому збільшенні.

2. Будову кореня замальовати.

3. На готовому препараті розглядають поперечний розріз кореня в зоні всмоктування і замальовують його.

Для роботи необхідні:

1. Проростки пшениці з молодими корінцями довжиною 2-3 см.
2. Готовий препарат поперечного розрізу кореня.
3. Мікроскоп.
4. Препарувальні голки, покривні і предметні скельця, скальпель, вода.

Питання для самоконтролю:

1. З яких зон складається корінь? Яку функцію виконує кожна з них?
2. Що являє собою кореневий чохлак? Функції і особливості будови.
3. В якій зоні кореня можна спостерігати первинну будову кореня і чому її називають первинною?
4. Що являють собою бар'єрні тканини кореня? Яка їхня будівля?
5. Яка будова провідної зони у однодольних рослин?
6. З чим пов'язаний перехід кореня від первинного до вторинного будовою?
7. З яких комплексів тканин складається корінь з вторинною будовою?

Лабораторна робота №5

Тема: ВИЗНАЧЕННЯ ІНТЕНСИВНОСТІ ТРАНСПІРАЦІЇ ВАГОВИМ МЕТОДОМ

Мета роботи: Ознайомитися з механізмом витрат води рослиною і методом визначення інтенсивності транспірації.

Завдання:

1. Визначити інтенсивність транспірації з листової поверхні рослини.
2. Визначити інтенсивність транспірації з відкритої водної поверхні.
3. Визначити відносну транспірацію.

Основні поняття

Транспірація (від лат. *trans* - через, *spiro* - дихання) - процес випаровування води з поверхні рослин, що відбувається через продихи та кутикулу. Основним органом транспірації є лист. Залежить від температури, вологості, вітру, світла.

Вид транспірації:

- *кутикулярна* (крізь поверхню кутикули, що вкриває епідерміс);
- *продихова* (крізь продихові щілини) (рис. 5.1).

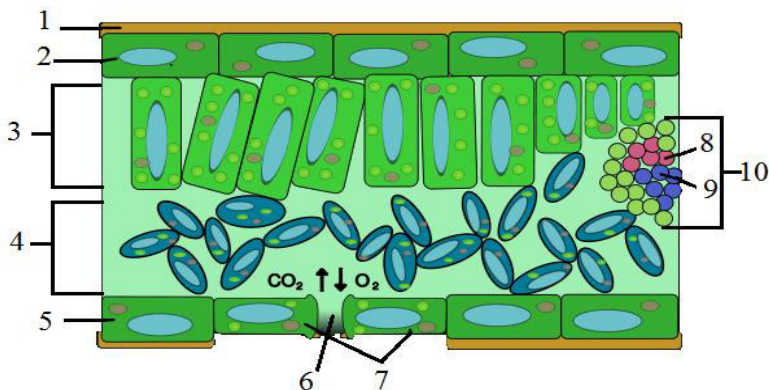


Рис. 5.1 Будава тканин листка в поперечному розрізі: 1 – кутикула; 2 – верхній епідерміс; 3 – палісадна (стовбчаста паренхіма); 4 – губчаста паренхіма; 5 – нижній епідерміс; 6 – продих; 7 – замикаючі клітини продиху; 8 – ксилема; 9 – флоема; 10 – провідний пучок.

Кутикулярна значно менша за продихову, але у молодому віці рослина має інтенсивну кутикулярну транспірацію, яка з віком зменшується. У цьому випадку спостерігається прояв біогенетичного закону, що підтверджує водне походження рослин планети. Тобто, коли рослини ще не мали захисних пристосувань проти висихання.

У результаті втрати води в ході транспірації в клітинах листя зростає смоктальна сила. Це призводить до посилення поглинання клітинами листя води з судин ксилеми і пересуванню води по ксилемі

з коріння в листя. Таким чином, верхній кінцевий двигун, який бере участь у транспорті води вгору по рослині, обумовлений транспірацією листя. Рослина транспірує, коли вологість навколишнього повітря нижче, ніж вологість повітря в порах рослинної тканини; у протилежному випадку рослина поглинає водяну пару з повітря. Транспірація відповідає приблизно за 10 % усієї вологи, що випаровується.

Інтенсивність транспірації - це кількість води, яку випаровує рослина з одиниці площі листка за одиницю часу. Вимірюється в грамах за 1 год. з м² листової поверхні.

Вона коливається в межах 15-250 г/м²/год. вдень і 1-20 г/м²/год. вночі.

Продуктивність транспірації - це кількість сухої речовини (г) утвореної рослиною при витраті на транспірацію 1 кг води. Вона коливається в межах 1-8 г.

Коефіцієнт транспірації - це кількість води (г), яка необхідна рослині для утворення одиниці сухої речовини. Він коливається в межах від 100 до 1000 г.

Відносна транспірація - це відношення інтенсивності транспірації з одиниці листової поверхні до швидкості випаровування однакової по величині вільної водної поверхні. Відносна транспірація знаходиться в межах 0,1-0,5. Вона показує, наскільки сильно затримується віддача води листком в порівнянні з випаровуванням з вільної водної поверхні. При високих температурах і низькій відносній вологості повітря відносна транспірація може підніматись майже до 1,0. Це означає, що листок, покритий епідермісом, може випаровувати так само інтенсивно, як і вільна водна поверхня. В інших випадках відносна транспірація може падати до 0,01 і нижче.

За рахунок транспірації рослинні організми пристосовуються до змін зовнішнього середовища.

Хід роботи:

1. В колбу або пляшку наливаемо води.
2. Черешок зрізаного листка повторно відрізаємо під водою на 1 см вище старого зрізу, щоб повітря не попало в судини і швиденько вставляємо черешок листка в пляшку з водою.
3. Шийку пляшки заліплюємо пластиліном, щоб виключити випаровування води з пляшки.

4. Витираємо пляшку і зважуємо її разом з листками на вазі, одночасно засікаючи час початку досліду.

5. Через 50-60 хвилин знову зважуємо пляшку з листком і відмічаємо кінець досліду.

6. Вимірюємо площу дослідного листка:

а) листок паперу зважуємо на вазі і вимірюємо його площу (см²);

б) на зважений листок кладемо пластинку дослідного листка рослини і обводимо його контур;

в) відрізуємо обведений контур і зважуємо його;

г) площу листка вираховуємо по формулі:

$$X = \frac{A \cdot C}{B} \text{ (см}^2\text{)},$$

Де: А – площа всього листка паперу (см²);

В – вага всього листка паперу (г);

С – вага вирізки (г).

Інтенсивність транспірації вираховуємо по формулі:

$$T = \frac{(a - b) \cdot 60 \cdot 10000}{(t_1 - t) \cdot X} \text{ (г/м}^2\text{/год)},$$

де а – вага пляшки на початку досліду;

в – вага пляшки в кінці досліду;

60 – коефіцієнт перерахунку хвилин в години;

t – час початку досліду;

t – час закінчення досліду;

X – площа дослідного листка, см².

Одночасно з основним дослідом проводимо визначення величини відносної транспірації.

1. Визначаємо площу чашки Петрі (IR^2).

2. Заповнюємо її водою, зважуємо і відмічаємо час початку досліду.

3. Через 50-60 хв. Зважуємо чашку з водою повторно і відмічаємо час закінчення досліду.

4. Розраховуємо інтенсивність випаровування з відкритої водної поверхні по формулі:

$$M = \frac{(a_1 - b_1) \cdot 60 \cdot 10000}{(t_3 - t_2) \cdot X_1} \text{ (г/м}^2\text{/год)},$$

де:

a_1 – вага чашки Петрі з водою на початку досліду, (г);

b_1 – вага чашки Петрі з водою в кінці досліду, (г);

t_3 – час початку досліду;

t_2 – час закінчення досліду;

60 – коефіцієнт перевodu хвилин в години;

10000 – коефіцієнт перевodu cm^2 в m^2 .

Відносну транспірацію визначаємо по формулі:

$$T_{\text{від.}} = \frac{T}{M},$$

де:

T – інтенсивність транспірації;

M – інтенсивність транспірації з відкритої водної поверхні.

Для роботи необхідні:

1. Вага з наважками.
2. Пляшка або колба на 150-200 мл.
3. Пластилін.
4. Листок буряка з черешком або іншої рослини.
5. Чашка Петрі.
6. Листок паперу.
7. Ножиці і лінійка.

Питання для самоконтролю:

1. Що називається транспірацією і яка її роль?
2. Що називається інтенсивністю і продуктивністю транспірації?
3. Що називається відотною транспірацією і від чого залежить її величина?
4. Чи змінюється інтенсивність транспірації в рослин різних місць проростання і географічного положення?

Лабораторна робота №6

Тема: ЗАХИСНІ МЕХАНІЗМИ КЛІТИН: ФЕРМЕНТАТИВНЕ РОЗЩЕПЛЕННЯ ПЕРЕКИСУ ВОДНЮ

Мета роботи: Побачити дію ферменту каталази в рослинних і тваринних тканинах, порівняти ферментативну

активність натуральних і зруйнованих в процесі кипіння тканин, показати можливості моделювання ферменту каталази.

Завдання:

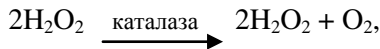
1. Спостерігати реакцію живих та відмерлих рослинних і тваринних клітин на дію перекису водню. Дати пояснення.
2. Змоделювати неорганічну модель каталази та дослідити механізм її дії.
3. Провести оцінку екологічного стану ґрунтів різних типів за їх каталазою активністю.

Основні поняття

В результаті окислювально-відновних процесів в клітинах утворюється перекис водню (H_2O_2). Сполука ця токсична для клітин, так як може викликати самоотруєння (денатурацію білків, зокрема ферментів). Аеробне життя робить можливим система ферментного захисту клітин, яка усуває токсичні ефекти O_2 .

Так, накопиченню перекису водню (H_2O_2) в клітинах перешкоджає фермент каталаза, поширений в клітинах, здатних існувати в кисневій атмосфері.

Каталаза (від грецьк. *καταλύω* - «руйную») - фермент, який розкладає перекис водню, що утворюються у процесі біологічного окиснення, на воду та молекулярний кисень:



а також окислює при наявності перекису водню низькомолекулярні спирти і нітриту, і бере таким чином участь у процесі клітинного дихання.

Каталаза функціонує з дуже великою швидкістю: при $0^\circ C$ одна молекула каталази розкладає за 1 с до 40 000 молекул перекису водню. Локалізується каталаза в клітинах (в мікротільцях клітин).

Каталазну активність виявлено у всіх облигатних та факультативних аеробних прокариот.

Перекис водню є і в ґрунті, де його також розкладає фермент каталаза мікроорганізмів. Різні ґрунти мають різну каталазну активність, що залежить від умов, в яких знаходяться ґрунти (клімат, температура, вологість ґрунту, характер рослинності і т. д).

Якісною реакцією біологічної активності ґрунту, яка вказує на родючість ґрунту, нарівні з іншими характерними реакціями, є каталазна активність ґрунту, що вказує на здатність ґрунту розкласти перекис водню.

Слід сказати, що фермент каталаза містить в своєму складі органічну сполуку заліза, яка входить в склад гемоглобіну крові. Значить, можна спробувати створити неорганічну модель каталази, підбравши речовини, що будуть її нагадувати, наприклад комплексну сполуку іона міді з аміаком. Моделювання ферментативного каталізу - перспективний шлях розвитку хімічної технології найближчого майбутнього.

Хід роботи:

1. Ферментативне розщеплення перекису водню рослинними і тваринними клітинами

1. Приготуйте тимчасовий препарат листка елодеї і розгляньте його при малому збільшенні мікроскопа. З однієї сторони накривного скла капніть піпеткою 1-2 краплі розчину перекису водню, з іншої сторони прикладіть фільтрувальний папір, щоб під накривне скельце попав розчин H_2O_2 . Уважно спостерігайте в мікроскоп, що буде відбуватися, коли клітини елодеї зіткнуться з розчином перекису водню. Поясніть побачене явище.

2. В пробірки положіть по маленькому кусочку (величиною з горошину) сирі і вареної картоплі, сирого і вареного м'яса, сирих і варених легень, сирих і варених нирок і т.д.

В кожену пробірку піпеткою додайте 8-10 крапель розчину перекису водню. Те, що ви спостерігаєте, зафіксуйте в табл.6.1

Таблиця 6.1

№ з/п	Об'єкт	Явища, які спостерігаються при дії перекису водню	Пояснення спостережень і висновки
1	Сира картопля		
2	Варена картопля		
3	Сире м'ясо		
4	Варене м'ясо		

5	Сирі легені		
6	Варені легені		
7	Сирі нирки		
8	Варені нирки		

2. Дослідження дії неорганічної моделі каталази

1. До 0,5 мл розчину сульфату міді ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) долийте декілька крапель розчину перекису водню (H_2O_2). Що спостерігаєте?

2. В другу пробірку налейте 0,5 мл розчину сульфату міді і додайте 5-10 крапель розчину аміаку. Що свідчить про хімічну реакцію між сульфатом міді і аміаком?

3. В пробірку з тільки що отриманим аміакатом міді прилийте (обережно) декілька крапель перекису водню. Яке явище ви спостерігаєте на цей раз?

4. Дайте пояснення, - що спільного між дією перекису водню каталази і аміакату міді? Чим відрізняється фермент від його неорганічної моделі?

3. Визначення каталазної активності ґрунту

Метод визначення каталазної активності ґрунту полягає у встановленні кількості молекулярного кисню, який виділяється при розпаді перекису водню у процесі взаємодії його з ґрунтом (газометричний спосіб). Для цього:

1. Наважку (1г) ґрунту розміщують у колбу з об'ємом 100 мл.

2. На дно колби за допомогою пінцета ставлять маленький стаканчик з 5 мл 3%-го розчину перекису водню. Колбу щільно закривають каучуковим корком із скляною трубкою, яка приєднана до вимірювальної бюретки гумовим шлангом.

3. Початок досліду відмічають за секундоміром у той момент, коли стаканчик з перекисом падає і вміст колби струшують.

4. Кисень, що виділяється, витісняє з бюретки воду, рівень якої відмічають через 0,5; 1; 1,5 та 2 хв. Активність каталази виражають в мілілітрах O_2 , що виділився за 1 хвилину на 1 г ґрунту.

Про екологічний стан досліджуваного ґрунту судять за оціночною шкалою, що наведена у табл. 6.2.

Таблиця 6.2

Шкала для оцінки ступені збагаченості ґрунтів ферментом каталаза

Ступінь збагаченості ґрунтів	Каталаза, млО ₂ /г /хв.
1. Дуже бідна	менше 1
2. Бідна	1 – 3
3. Середня збагаченість	3 – 10
4. Збагачена	10 – 30
5. Дуже збагачена	більше 30

Примітка: в різних типах ґрунтів та в різні сезони року ферментативна активність змінюється. Тому для адекватної оцінки екологічного стану досліди проводять в одному часовому просторі та на однорідних типах ґрунтів.

Для роботи необхідні:

3% розчин перекису водню або таблетки гідропірититу по 1,5 г, листочки елодеї, мікроскопи, предметні і накривні скельця, кусочки сирих і варених картоплі, м'яса, легень, пробірки, розчини сульфату міді (10% розчин) і аміаку (5-10% розчин), піпетки.

Питання для самоконтролю:

1. Як утворюється перекис водню в клітинах і яка його роль?
2. Що розкладає перекис водню і яке це має значення?
3. Що утворюється при розкладі перекису водню? Написати рівняння реакції.
4. Чому каталазна активність ґрунту являється якісною реакцією біологічної активності ґрунту?
5. Чим відрізняється органічний фермент від його неорганічної моделі.

Лабораторна робота № 7

Тема: ОСМОТИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ КЛІТИНИ І МЕХАНІЗМ НАДХОДЖЕННЯ ВОДИ В КЛІТИНУ

Мета роботи: Ознайомитися з явищами осмосу, потенціального осмотичного і тургорного тиску, плазмолізом і смоктальною силою рослинних клітин і визначити в

рослинних клітинах потенціальний осмотичний тиск і смоктальну силу.

Завдання:

1. Ознайомитися з явищами осмосу, потенціального осмотичного тиску і тургорного тиску.
2. Ознайомитися з явищами плазмолізу і деплазмолізу і розглянути їх в листках елодеї.
3. Визначити співвідношення між осмотичним тиском, тургорним тиском і смоктальною силою.
4. Визначити осмотичний тиск в клітинах листка елодеї і коренеплоду столового буряка.
5. Визначити смоктальну силу клітин кореня столового буряка.
6. Визначити смоктальну силу клітин кореня буряка.

Основні поняття

Вибірковість транспорту речовин крізь мембрану вважається однією з ознак життя на клітинному рівні. Дифузію води крізь напівпроникну мембрану із розчину з низькою концентрацією розчиненої речовини до розчину з високою концентрацією розчиненої речовини називають **осмосом**.

Вибірковість транспорту крізь проникну мембрану призводить до виникнення в клітині осмотичних явищ. **Осмотичними** називають явища, що відбуваються в системі з двох розчинів, які розділені напівпроникною мембраною. У рослинній клітині роль напівпроникних плівок виконують: плазмалема - мембрана, що розділяє цитоплазму та зовнішньоклітинне середовище, і тонопласт - мембрана, що розділяє цитоплазму і клітинний сік (вміст вакуолі рослинної клітини).

В вакуолях концентрація клітинного соку завжди більша концентрації ґрунтового розчину, тому вода прямує всередину кореня (в клітину).

Надходження води в вакуолю клітини і збільшення її розмірів призводить до появи гідростатичного тиску її на цитоплазму і оболонку. Цей гідростатичний тиск називають **тургорним тиском** (Т). Таким чином, **тургор** - стан внутрішнього напруження клітини, який обумовлений високим вмістом води та зростаючим тиском вмісту клітини на її оболонку.

Еластично розтягнута тиском клітинного соку оболонка клітини діє в протилежному напрямку на вміст клітини (W), при цьому тиск оболонки і тургорний тиск завжди рівні, але з протилежними знаками.

Однією з властивостей клітин є їх *тургесцентність*, тобто обмежене розтягування целюлозної оболонки клітини. При надходженні води в клітину вона буде збільшуватись і розтягуватись до якоїсь визначеної межі. Потім при найбільшому об'ємі клітини протилежний тиск розтягнутої оболонки врівноважує внутрішній гідростатичний тиск клітинного соку, і надходження води в клітину припиняється.

Максимально можливий гідростатичний тиск клітинного соку на оболонку при повному насиченні клітини водою називається *потенціальним осмотичним тиском* або *осмотичним потенціалом* (P).

При повному насиченні клітини водою осмотичний потенціал проявляється у вигляді гідростатичного тургорного тиску, який в свою чергу, врівноважується протилежним тиском розтягнутої клітинної оболонки (W). В такому стані ($P=T=W$), надходження води в клітину припиняється, так як клітинна оболонка розтягнута повністю і розтягуватись далі не може.

Але в наземних рослин внаслідок постійних втрат води на випаровування (транспірацію), клітина майже ніколи не буває в стані повного насичення, тому тургорний тиск не досягає своєї повної величини, тобто T завжди менше P . При такому стані клітина здатна всмоктувати в себе воду і збільшуватись в об'ємі. Чим менше клітина насичена водою, тим більша різниця між P і T , тим з більшою силою клітина може всмоктувати воду.

Таким чином, *смоктальна сила клітини* (S) являється різницею між осмотичним і тургорним тиском:

$$S = P - T$$

Рух води від однієї клітини до іншої відбувається також внаслідок різниці в смоктальній силі цих клітин. Наприклад, по мірі віддаленості від корневих волосків до провідних судин кореня смоктальна сила клітин послідовно росте, в результаті чого вода рухається по клітинах осмотично від корневих волосків до судин в центрі кореня. Таким же чином рухається вода по клітинах хлорофілонової паренхіми від судин до міжклітинних порожнин листка, де вона випаровується. Але по судинах кореня, стебла і листка вода рухається вже не внаслідок

осмосу, а як по порожніх трубках, підкоряючись законам гідродинаміки.

При мінімальному об'ємі клітини її сік не буде тиснути на цитоплазму і оболонку, тургор в ній буде відсутнім ($T=0$), а смоктальна сила - максимальною ($S=P$). При найбільшому об'ємі клітини її оболонка буде гранично розтягнута, клітина воду всмоктувати не може, тургор буде найбільший ($P-T$), а смоктальна сила відсутня ($S=0$). В проміжних станах клітини $S=P-T$. Чим менше клітина насичена водою, тим менше її об'єм і тургор і тим більше смоктальна сила.

Якщо осмотичний тиск внутрішнього розчину більший ніж тиск зовнішньої рідини, розчин називають *гіпертонічним*, якщо менший - *гіпотонічним*, якщо рівний - *ізотонічним*. В цьому значенні термін "осмотичний тиск" сміливо можна замінити на "концентрація осмотично активної речовини".

При дії на клітину гіпертонічного розчину швидкість дифузії води з клітинного соку буде перевищувати швидкість дифузії води до клітини з зовнішнього розчину. Внаслідок втрат клітиною води об'єм клітинного соку зменшується, тургор понижується. Зменшення об'єму клітинної вакуолі супроводжується відділенням цитоплазми від оболонки. В процесі *плазмолізу* протопласт втрачає воду, зменшується в розмірах та відстає від клітинної стінки.

Залежно від в'язкості цитоплазми, від різниці між осмотичним тиском клітини та зовнішнього розчину, а отже, від швидкості та ступені втрат води цитоплазмою розрізняють плазмоліз *випуклий*, *ввігнутий*, *судомний* та *ковпчковий* (рис. 7.1).

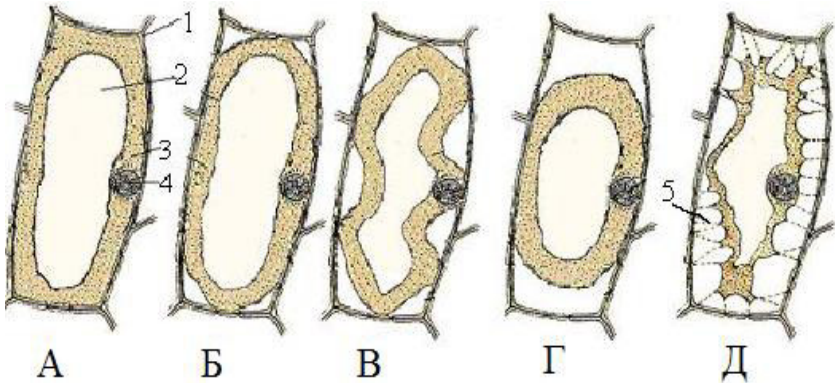


Рис. 7.1. Плазмоліз рослинної клітини: А - клітина в стані тургору; Б - кутовий; В - ввігнутий; Г - випуклий; Д - судомний; 1 - оболонка; 2 - вакуоль; 3 - цитоплазма; 4 - ядро; 5 - нитки Гехта.

Плазмолізовані клітини, як правило, лишаються живими, особливо, якщо клітина провела у стані плазмолізу нетривалий час. При розміщенні живої плазмолізованої клітини у воді або гіпотонічному розчині відбувається **деплазмоліз** - клітина повертається у стан тургору та набуває нормального вигляду.

Хід роботи

1. Визначення потенціального осмотичного тиску клітинного соку методом плазмолізу

1. В чашки Петрі налити воду і розчин NaCl різної концентрації по слідуючій схемі: чашка №1 - 0,1н NaCl; №2 - 0,2н NaCl; №3 - 0,3н NaCl; №4 - 0,4н NaCl; №5 - 0,5н NaCl; №6 - 0,6н NaCl; №7 - дистильована вода (H₂O); №8 - 1н NaCl.

2. В чашки №№ 1-8 покласти по одному листочку елодеї.

3. Підготувати тонкі (мікроскопічні) зрізи кореня столового буряка площею 2 - 4 мм² і помістити в чашки №№ 1- 6.

4. Через 10-15 хвилин спостерігаємо явище тургору на об'єктах, які були поміщені в чашку №7 (вода) і явище плазмолізу на об'єктах поміщених в чашку №8 (1н NaCl). Листочки елодеї слід розглядати під мікроскопом в тому середовищі, в якому вони знаходились. Для цього листя, яке було у воді, необхідно перенести на предметне скло разом з краплею води, а яке було в 1н NaCl - з краплею розчину 1н

NaCl. Потім покрити покривним скельцем і розглядати під мікроскопом.

5. Замалювати в зошит декілька клітин листка елодеї в стані тургору і плазмолізу (рис. 7.1).

6. Через 15-20 хвилин приступаємо до розгляду клітин листка елодеї і зрізів столового буряка в чашках №1 - 6. Розгляд їх під мікроскопом (можна на одному склі) проводимо в краплі того ж розчину, в якому вони знаходились (див. пункт №4). При високих концентраціях розчинів (0,5-0,6н) в клітинах проходить сильний плазмоліз, а при низьких (0,1н) - клітини залишаються без змін. Необхідно знайти таку концентрацію розчину, при якій тільки починається плазмоліз, тобто коли тільки починається слабо помітне відставання протоплазми від оболонки в кутках клітин. Це буде ізотонічна концентрація розчину, при якій розчин солі має однаковий тиск з осмотичним тиском клітинного соку об'єкту, що розглядається.

Наприклад, слабкий плазмоліз ми побачили при концентрації 0,4н NaCl, а при концентрації 0,3н NaCl плазмолізу не спостерігалось. Значить, ізотонічна концентрація знаходиться між 0,4 і 0,3 і приблизно рівна 0,35.

Спостереження за плазмолізом в елодеї і столового буряка записують в наступній формі:

Концентрація розчину	Плазмоліз		Ізотонічна концентрація	
	елодея	буряк	елодея	буряк
0,1н	немає			
0,2н	немає			
0,3н	немає		0,35	
0,4н	слабкий			
0,5н	сильний			
0,6н	сильний			

7. Вираховують потенціальний осмотичний тиск по формулі:

$$P = \frac{R \cdot T \cdot i}{V}$$

де: P - осмотичний тиск, в Па (в паскалях);

R - універсальна газова постійна, в системі СІ рівна $8,31 \cdot 10^3$ Дж/Кмоль;

T - абсолютна температура по Кальвіну, рівна (273° +t°C), наприклад, 273 + 17 = 290°K (17°C – температура в приміщенні);

V - об'єм води (в літрах), в якій треба розчинити рам-молекулу NaCl, щоб отримати ізотонічну концентрацію. Він рівний 1/K (K - ізотонічна концентрація);

$$i \left(\frac{1}{0,35} = 2,86 \right);$$

i – ізотонічний коефіцієнт (для NaCl – 1,5)

$$P = \frac{8,3 \cdot 10^3 \cdot (273 + 17) \cdot 1,5}{2,86}$$

2. Визначення смоктальної сили по зміні довжини смужок рослинної тканини в розчинах різної концентрації

1. Після того, як приготували мікроскопічні зрізи кореня столового буряка і поклали їх в розчини, нарізаємо 8 смужок з кореня столового буряка перерізом 2x2 мм і довжиною 4-5 см. Смужки повинні бути строго однакової довжини. Для цього кожному з них слід покласти на міліметровий папір або лінійку, виміряти їх довжину і відрізати.

2. В дві чашки Петрі (№1-6), куди поклали зрізи столового буряка і листки елодеї, кладемо по смужці кореня столового буряка.

3. Через 25 хвилин витримування смужок в розчинах (чашки №1-6) вимірюємо знову їх довжину, попередньо легенько осушивши їх фільтрувальним папером.

4. Спостереження записуємо в наступній формі:

Концентрація розчину	Довжина смужок (см)	Ізотонічна концентрація
0,1 н	стала довше	
0,2 н	стала довше	
0,3 н	стала коротше	0,25
0,4 н	стала коротше	
0,5 н	стала коротше	
0,6 н	стала коротше	

Необхідно знову знайти ізотонічну концентрацію розчину (концентрація при якій смужка залишалась без змін).

5. Вираховують смоктальну силу клітин кореня столового буряка по формулі:

$$S = \frac{R \cdot T \cdot i}{V} = \frac{8,3 \cdot 10^3 (273 + 17) \cdot 1,5}{4} =$$

де S – смоктальна сила, в Па.

6. Визначити тургорний тиск в коренях столового буряка по формулі:

$$T = P - S$$

Для роботи необхідні:

1. Мікроскоп, предметні і покривні скельця, скальпель, препарувальна голка.
2. Чашка Петрі – 8 шт.
3. Розчини 0,1н NaCl, 1н NaCl.
4. Дистильована вода.
5. Фільтрувальний папір.
6. Міліметровий папір або лінійка.
7. Листки елодеї і корінь столового буряка.

Питання для самоконтролю:

1. Що таке осмос і потенціальний осмотичний тиск і яка їх роль в механізмі надходження води в клітину і рослину?
2. Що таке тургор і плазмоліз?
3. Яка величина осмотичного тиску в клітинах листка елодеї і кореня столового буряка?
4. Що таке ізотонічний, гіпотонічний і гіпертонічний розчини?
5. Що таке смоктальна сила і як вона залежить від осмотичного тиску і тургору?
6. Наведіть приклади співвідношення між смоктальною силою, осмотичним і тургорним тиском у випадках, коли S=0 і T=0.
7. В яких випадках в експерименті смужки рослинної тканини будуть скорочуватись, видовжуватись і залишатись без змін?
8. Яка величина (в Па) смоктальної сили і тургору в коренях столового буряка?

Лабораторна робота № 8

Тема: ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ ОРГАНІЧНОЇ РЕЧОВИНИ В ЛИСТКАХ РОСЛИН

Мета роботи: Ознайомитись з фотоколориметричним методом визначення вмісту органічного вуглецю в листках рослин мокрим спалюванням в хромовій суміші по Х.К. Алікову.

Основні поняття

Кінцевий результат фотосинтезу – відновлення вуглецю з двоокису вуглецю і накопичення його в синтезованих органічних сполуках (рис. 8.1).

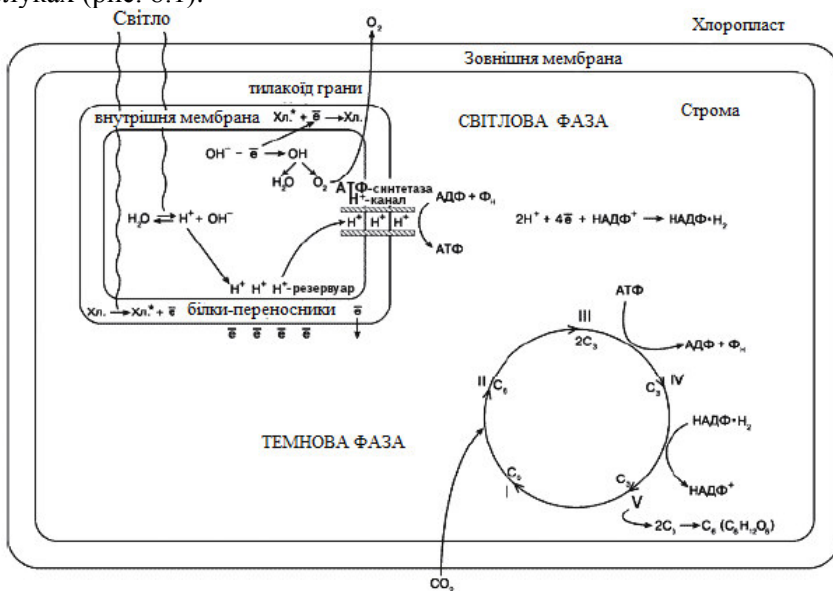


Рис. 8.1. Спрощена схема процесу фотосинтезу

Світлова фаза фотосинтезу (на мембранах тилакоїдів клітин):

Фотосинтезуючі пігменти поглинають енергію світла, що приводить до “збудження” одного з електронів молекули пігменту, який за допомогою молекул-переносників переміщується на зовнішню поверхню мембрани тилакоїдів.

Відбувається фотоліз води: $H_2O \rightarrow H^+ + OH$

Іони H^+ перетворюються на гідроген, який використовується у реакціях фотосинтезу: $H^+ + e \rightarrow H$.

Гідроксильні йони, взаємодіючи між собою, утворюють кисень, воду й вільні електрони: $4 OH \rightarrow 2H_2O + O_2 + 4e$.

Електрони через ряд проміжних речовин передають енергію для відновлення НАДФ (нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат), який приєднає два атоми гідрогену й перетворюється на НАДФН.

Частина енергії електронів перетворюється на енергію АТФ:



Темнова фаза (цикл Кальвіна (у стромі хлоропластів)):

За наявності CO_2 , енергії АТФ та сполук, що утворилися у світлових реакціях, відбувається приєднання гідрогену до CO_2 , який надходить у хлоропласти із зовнішнього середовища. Через ряд послідовних реакцій за участю специфічних ферментів утворюються різноманітні сполуки, основними з яких є вуглеводи.

Під час біохімічних реакцій цикла Кальвіна відбувається фіксація атома Карбону CO_2 , для будови глюкози.

Для синтезу 1 молекули глюкози потрібні 12 молекул НАДФН та 18 молекул АТФ, які утворюються під час фотохімічних реакцій фотосинтезу.

Глюкоза, що утворюється в циклі Кальвіна, потім може розщеплюватись до пірувату і надходити до циклу Кребса.

Оскільки між кількістю утворених органічних сполук і фотосинтезуючою активністю листка існує пряма залежність, то по нагромадженню вуглецю органічної речовини можна судити про **інтенсивність фотосинтезу**.

Суть методу полягає в наступному: з листка кімнатної рослини герані, фіалки або традесканції вирізають свердлом диски визначеної величини і визначають в них вміст органічного вуглецю. Після перебування рослини на світлі на протязі 2-3 год. з тієї ж листової пластинки беруть повторно таке ж число дисків і знову визначають в них вміст органічного вуглецю.

Кількість накопиченого вуглецю органічної речовини знаходять по різниці між вмістом його в кінці і на початку досліду, а потім розраховують на одиницю листової поверхні в одиницю часу (мг/дм² за 1 год.).

Аліков Х.К. запропонував визначення засноване на тому, що при окисленні рослинного матеріалу хромовою сумішшю іони Cr^{+6} відновлюються до іонів Cr^{+3} синього кольору. Кількість утворених іонів Cr^{+3} знаходиться в лінійній залежності від вмісту органічного вуглецю, який окислився. Визначення концентрації іонів Cr^{+3} виконують на фотоелектроколориметрі (КФК-2) з жовтим світлофільтром ($\lambda_{\text{max}} = 590 \text{ нм}$). В цьому випадку іони Cr^{+6} практично не заважають визначенню іонів Cr^{+3} .

Хід роботи:

1. За допомогою свердла вирізають з листка рослини від 3 до 10 дисків в залежності від того, яка рослина вивчається і поміщають їх в конічну колбу на 100 мл.

2. В колбу з вирізаними дисками приливають 10 мл 0,2н хромової суміші.

3. Реакційну суміш слабо кип'ятять на протязі 5 хв. На піщаній бані.

4. Після повного охолодження розчин з пробірки кількісно переносять дистильованою водою в мірну колбочку на 50 мл, доводять до мітки і добре перемішують.

5. Одночасно готують і контрольне визначення, проливанням в мірну колбочку на 50 мл всіх реактивів з виконанням всіх операцій, крім добавки рослинного матеріалу.

6. Оптичну густину (коефіцієнт пропускання) розчину визначають в кюветі з товщиною шару 10 мм на фотоелектроколориметрі (КФК-2) з світлофільтром 590 нм.

7. Покази приладу переводять у величину концентрації глюкози при допомозі калібрівочного графіку.

Для цього в десять пробірок наливають відповідно 0,1; 0,2 і т.д. до 1,0 мл стандартного розчину глюкози і по 10 мл 0,2н хромової суміші, а в одинадцяту - тільки 10 мл 0,2н хромової суміші. Вміст всіх пробірок кип'ятять 5 хв. Після охолодження вміст пробірок переносять в мірні колби на 50 мл, доливають дистильованої води до мітки і колориметрують (світлофільтр 590 нм, кювета 10 мм).

На осі абсцис відкладають концентрацію глюкози (мг на 50 мл), а на осі ординат - відповідно значення оптичної густини (коефіцієнт пропускання). Точки з'єднують і отримують калібрівочний графік.

8. Перерахунок органічної речовини на вуглець (M_C) або двоокис вуглецю (M_{CO₂}) здійснюють по формулі:

$$M_C = 0,4 \text{ Мгл.}$$

$$M_{CO_2} = 1,47 \text{ Мгл.},$$

де: Мгл - кількість глюкози, яка відповідає вмісту органічної речовини в рослинній пробі, мг;

0,4 і 1,47 - коефіцієнти перерахунку відповідно на вуглець і двоокис вуглецю.

Кількість вуглецю органічної речовини (в мг), яка міститься в листку площею 1 дм², розраховують по формулі:

$$X = \frac{0,4M_{гг} \cdot 100}{S}, \text{ мг/дм}^2/\text{год.}$$

де: S – площа вирізки, см²; 100 – множник для перерахунку в дм².

Інтенсивність фотосинтезу (мг/дм²/год) визначають по різниці між кінцевим і початковим значенням кількості органічної речовини листка.

Результати досліду записують по формі таблиці 8.1.

Таблиця 8.1

Визначення інтенсивності фотосинтезу

Варіант досліду	Тривал. досліду	Площа виріз. дисків	Об'єм розчину, мл	Покази приладу, Т	Вміст глюкози по калібровочному графіку мг/50мл	Вміст вуглецю, мг/дм ²	Інтенсивн. фотосинтезу, мг/дм ² /год
1	Початок досліду						
2	Після перебування на світлі 2 год.						

Для роботи необхідні:

1. Рослини герані, фіалки, традесканції.
2. Конічні колби на 100 мл.
3. Свердла діаметром 5.....10 мм.
4. Фотоелектроколориметр КФК-2.

5. Мірні колби на 50 мл, лійки.
6. Дозатор на 10 мл або піпетки на 10мл.
7. Піщаний годинник на 5 хвилин.
8. Піщана баня.
9. Глюкоза, сульфат міді, конц. H_2SO_4

Питання для самоконтролю:

1. Що таке фотосинтез?
2. Що виявляється вихідними і кінцевими продуктами фотосинтезу?
3. Які процеси проходять в світловій фазі фотосинтезу?
4. Які процеси проходять в темновій фазі фотосинтезу?
5. Яка роль фотосинтезу?
6. Що означає термін фотоліз води?

Лабораторна робота №9

Тема: ВИЗНАЧЕННЯ ІНТЕНСИВНОСТІ ДИХАННЯ ПРОРОСЛОГО НАСІННЯ В ЗАКРИТІЙ ПОСУДИНІ

Мета роботи: Ознайомитись з методом визначення кількості вуглекислого газу (CO_2), який виділяє насіння при диханні.

Основні поняття

Дихання – це складний фізіологічний процес, який є інтегральним показником метаболізму рослин. Зерна для підтримки життя отримують необхідну їм енергію в процесі дисиміляції запасних органічних речовин, головним чином цукрів. Витрачений цукор поповнюється в результаті гідролізу крохмалю або окислення жирів. Дисиміляція цукрів може відбуватися аеробно, тобто окисленням, або анаеробно.

Аеробний процес дисиміляції (процес протилежний фотосинтезу) відбувається при аеробному диханні, коли спостерігається повне окислення гексози (глюкози) із вихідних продуктів фотосинтезу - діоксиду вуглецю і води:



При анаеробному диханні йде анаеробна дисиміляція, яка представляє собою спиртове бродіння, при цьому гексоз розщеплюється з утворенням етилового спирту. При достатньому доступі повітря в зерні переважає процес аеробного дихання.

Визначити тип дихання можна за допомогою дихального коефіцієнту $DK = CO_2:O_2$. При повністю аеробному диханні $DK=1$. При анаеробних процесах збільшується кількість діоксиду вуглецю.

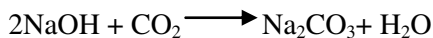
Якщо частина кисню насіння витрачають не тільки на дихання, але й на інші потреби, наприклад на окислення жирів, дихальний коефіцієнт менше одиниці. Це характерно для насіння олійних культур.

Величина дихального коефіцієнта у зерна злакових і насіння бобових культур при зберіганні завжди більше одиниці при низькій вологості зерна, наближається до одиниці у зерна вологістю 16 - 17% і менше одиниці при вологості більше 17%. В результаті дисиміляції в зернах відбуваються такі зміни, як втрата маси сухих речовин зерна, збільшення гігроскопічної вологи в зерні і підвищення вологості повітря міжзернових просторів, зміна складу повітря міжзернових просторів, виділення тепла. Вода, що виділяється при подиху, утримується зерном. В результаті збільшується його вологість, що призводить до більш інтенсивного газообміну і створює умови для розвитку мікроорганізмів.

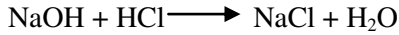
Проростання насіння супроводжується інтенсивним диханням зерна, значним виділенням енергії, великими втратами сухих речовин (іноді до 45-47%).

В результаті дихання зерна виділяється також діоксид вуглецю. Якщо при зберіганні зерно не переміщують, то діоксид вуглецю затримується в міжзернових просторах. У зерновій масі створюються умови, що змушують живі організми переходити на анаеробний тип дихання. Продукт анаеробного дихання - етиловий спирт. Він гнітуче діє на функції клітин і призводить до втрати життєздатності зерна.

Метод визначення кількості CO_2 , який виділяє проросле насіння при диханні, оснований на здатності гідроксиду натрію ($NaOH$) поглинати вуглекислий газ:



Надлишок гідроксиду натрію, який не прореагував з CO_2 , відтитрують соляною кислотою в присутності фенолфталеїну.



Закінчують титрування в момент переходу малинового кольору фенолфталеїну до слабо-рожевого, який надалі повністю знебарвлюється від однієї краплі кислоти.

Слід пам'ятати, що розчин NaOH залишати відкритим не слід, так як він легко поглинає CO_2 з повітря, розкладаючись при цьому.

Хід роботи:

1. В марлевий мішечок поміщаємо 4 г пророслого насіння пшениці.
2. В дві конічні колби на 100 мл наливаємо за допомогою бюретки по 29 мл 0,1н NaOH і швиденько закриваємо колби пробками.

3. В одну колбу підвішуємо на гачок мішечок з пророслим насінням і швиденько закриваємо (рис. 9.1).

4. Другу колбу залишаємо для контролю, щоб виключити CO_2 , який є в повітрі.

5. Обидві колби витримуємо 1 год. при кімнатній температурі (18-20°C), а також визначаємо інтенсивність дихання насіння при 30°C.

6. На протязі досліду періодично обережно покачуємо обидві колби, щоб зруйнувати плівку Na_2CO_3 , яка утворюється на поверхні розчину і заважає поглинанню CO_2 .

7. Коли 1 год. досліду закінчилась, виймаємо з колби мішечок з насінням, добавляємо до розчину три краплі фенолфталеїну і титруємо 0,1 HCl до слабо рожевого кольору, який повністю надалі знебарвлюється від однієї краплі кислоти.

8. Таким же чином титруємо і контрольну колбу.

Інтенсивність дихання, мг CO_2 на 1 г сухого насіння за 1 год. вираховуємо по формулі:

$$C = \frac{(a - b) \cdot k \cdot 2,2}{n},$$

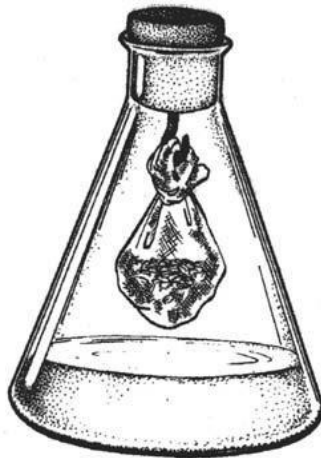


Рис. 9.1 Колба для визначення інтенсивності дихання

де: а і b – кількість 0,1н НСІ, яка пішла на титрування 0,1н NaOH відповідно контрольної і дослідної колб;

к – поправка до титру 0,1 розчину НСІ;

2,2 – кількість CO₂, мг, яка відповідає 1 мл 0,1н НСІ;

п – маса насіння.

Результати досліду записують у формі таблиці 9.1.

Таблиця 9.1

Визначення інтенсивності дихання

Температура, °С	Вага насіння, г	Об'єм 0,1н NaOH розлитого в колби, мл	Кількість 0,1н НСІ, яка пішла на титрування, мл		Інтенсивність дихання, мгCO ₂ /г/год.
			дослід	контроль	
18-20					
30					

Питання для самоконтролю:

1. Чому проросле насіння дихає
2. Чим відрізняється процес фотосинтезу від процесу дихання?
3. Що утворюється при диханні, крім CO₂?
4. Як та з якою метою визначається дихальний коефіцієнт?
5. Що відбувається в процесі аеробного дихання насіння?

Лабораторна робота №10

Тема: ВИЗНАЧЕННЯ СТІЙКОСТІ РОСЛИН ДО ВИСОКИХ ТЕМПЕРАТУР

Мета роботи: Визначити рівень жаростійкості рослин різних видів за ступенем феофітинізації та в'язкістю цитоплазми.

Основні поняття

Вплив високих температур спричинює пошкодження структури й функції цитоплазматичних мембран, білків, гальмує рух цитоплазми, знижує мітотичний індекс тощо. Для з'ясування специфіки адаптації рослин до дії високих температур доцільними є дослідження їх

фотосинтетичного апарату. Наразі за дії високих температур у клітинах мезофілу листка відбувається пошкодження цілісності напівпроникних мембран, внаслідок чого відбувається дифузія речовин по клітині та за її межі. Такий листок, занурений у розчин соляної кислоти, може набувати бурого забарвлення в результаті **феофітинізації** (окиснення) хлорофілу.

Крім того, жаростійкі рослини характеризуються більш високою в'язкістю й еластичністю цитоплазми порівняно з рослинами менш жаростійкими. Ступінь в'язкості цитоплазми визначають за часом, протягом якого увігнутий плазмоліз переходить в опуклий.

Хід роботи:

Оцінка жаростійкості рослин за ступенем феофітинізації

1. Нагріти водяну баню до 40 °С.
2. Занурити в неї по 5 листків кожного виду рослин і витримати протягом 30 хв., підтримуючи температуру водяної бані.
3. Взяти першу пробу, витягуючи по одному листку кожного виду рослин, і охолодити їх у чашці Петрі з холодною водою.
4. Збільшити температуру водяної бані до 50 °С і через 10 хв. витягнути ще по одному листку і охолодити їх у новій чашці Петрі з холодною водою.
5. Збільшити температуру водяної бані до 60 °С і через 10 хв. витягнути ще по одному листку, охолодити.
6. Аналогічно інкубувати листки за дії 70 °С та 80 °С. Листки охолодити.
7. Воду в чашках Петрі замінити на 0,2 н. розчин НСІ і за 20 хв. оцінити ступінь пошкодження листків за величиною бурих плям.
8. Результати досліджень записати в таблицю 10.1, відмічаючи: відсутність побуріння знаком «-», незначне побуріння - «+», побуріння понад 50 % площі листка - «++», повне побуріння - «+++».

Таблиця 10.1

Визначення жаростійкості рослин за ступенем феофітинізації клітин мезофілу листка

Об'єкт дослідження	Ступінь пошкодження листків за температури, °С				
	50	60	70	80	90

9. Зробити висновки щодо жаростійкості рослин різних екологічних груп.

Діагностика жаростійкості рослин за в'язкістю цитоплазми

1. Приготувати мікропрепарати поперечних зрізів листків дослідних рослин.
2. Пофарбувати їх нейтральним червоним впродовж 5-10 хв.
3. Промити зрізи водою, підсушити фільтрувальним папером і занурити у краплину 1М розчину сахарози на предметному склі.
4. Зрізи накрити покривним скельцем, краї якого змастити вазеліном. Розглянути їх під мікроскопом.
5. Відмітити час настання увігнутого та опуклого плазмолізу.
6. За часом появи опуклого плазмолізу зробити висновки про ступінь в'язкості цитоплазми в клітині та про відносну жаростійкість дослідних рослин.

Для роботи необхідні:

1. Зелені листки різних видів рослин (сентполії, традесканції, пеларгонії, пеперомії, бегонії, плюща, алое, цибулі)
2. 0,2 н. розчин соляної кислоти
3. 1М розчин сахарози
4. Розчин нейтрального червоного (1:5000)
5. Вазелін
6. Фільтрувальний папір
7. Водяна баня
8. Термометри
9. Піпетки
10. Чашки Петрі
11. Кристалізатори
12. Чайник з киплячою водою
13. Олівці по склу
14. Мікроскопи
15. Предметні та накривні скельця

Питання для самоконтролю:

1. Що таке феофітинізація хлорофілу? Чим вона зумовлена?
2. Чому за дії пошкоджуючих факторів зростає ступінь феофітинізації?
3. У рослин якої екологічної групи найвищий рівень жаростійкості? В яких рослин цей рівень найнижчий?

4. Чи існує залежність між в'язкістю цитоплазми та жаростійкістю рослин?
5. Якими фізіологічними механізмами зумовлена висока жаростійкість алое порівняно з цибулею, традесканцією?
6. Що таке в'язкість цитоплазми?

Лабораторна робота №11

Тема: ВИВЧЕННЯ МОРФОЛОГІЧНИХ ОСОБЛИВОСТЕЙ ПРЕДСТАВНИКІВ КЛАСУ НИЖЧИХ РАКОПОДІБНИХ

Мета роботи: Ознайомитись з деякими морфологічними особливостями будови представників класу нижчих ракоподібних.

Основні поняття

Найбільш примітивні ракоподібні відносяться до підкласу Зяброногих раків (*Branchiopoda*). Дафнії (*Daphnia*) є представниками ряду Листоногих, підряду Гіллястовусі (*Ciociosega*).

Дафнія, або водяна блоха, влітку у великій кількості трапляється у калюжах, невеликих стоячих водоймах, озерах і ставках. Рух дафній стрибкокоподібний. Тому вони і дістали назву водяної блохи. Такий рух дафній відбувається за рахунок антен, розташованих на передній головній частині тіла.

Представники цієї групи раків мають мішкоподібне тіло, замкнуте між стулками тонкостінного хітинового панцира (рис. 11.1).

Для дафнії, як і для інших гіллястовусих, характерна невелика сегментація тіла. Воно розчленоване на голово-груди і черевце. На голові знаходиться дві пари антен (перша і друга). Із них одна пара великих розмірів, має двогіллясту будову і бере участь у пересуванні. На голові добре помітне велике, темне, складне (фасеточне) око. Грудний відділ складається із 4 - 6 члеників, на яких містяться короткі ніжки з рядами щетинок по краях і зябровими пелюстками при основі. Вода, захоплена рухом цих ніжок, потрапляє в середину панцира, омиваючи зябра, а наявні в ній мікроорганізми і харчові часточки затримуються щетинками ніг і направляються в рот. Таким чином, грудні кінцівки функцію руху втратили. На черевці у дафній кінцівок немає.

Зелено-жовтий кишечник з парним печінковим відростком, проглядається при збільшенні крізь черевце. Черевце (воно завжди підігнуте під груди) закінчується роздвоєною вилочкою. Над кишками легко помітили пульсуюче мішкоподібне серце. На спинному боці між панциром і тілом самки розташована зародкова камера з яйцями. Самці менші за розміром від самок і не мають зародкових камер.

До гіллястовусих відносяться і такі пелагічні рачки, як невелика (менш 1 мм у довжину) босміна довгоноса (*Bosmina longirostris*). Її легко впізнати по довгому загнутому носі - рострумі - з пучком щетинок посередині.

Широко поширені також і діапомуси, які належать до підкласу Максиллопод (*Maxillopoda*). Тіло їх складається з голови, членистих грудей і черевця. Основний орган руху - потужні антени і ніжки, що несуть плавальні щетинки.

Ще частіше в прісних водах зустрічаються циклопи (*Cyclops kolensis*). На голові цих рачків тільки одне око, антени короткі (рис. 11.1). Відрізняються циклопи метушливим, що здаються безладним рухом.

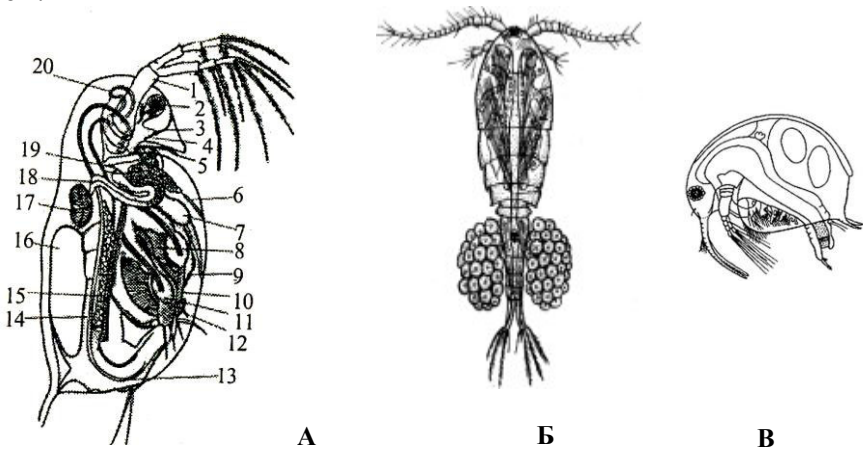


Рис. 11.1 Нижчі ракоподібні: А – дафнія: 1 – антени; 2 – складне око; 3 – наупліальне око; 4 – мозок; 5 – антенули; 6 – 1-а пара грудних ніжок; 7 – 2-а пара грудних ніжок; 8 – щетинки 3-ї пари грудних ніжок; 9 – епіподит (екзоподит) 3-ї пари ніжок; 10 – ендоподит 4-ї пари ніжок; 11 – щетинки 4-ї пари ніжок; 12 – епіподит (екзоподит) 4-ї пари ніжок; 13 – кишечник; 14 – яєчник; 15 – епіподит (екзоподит) 5-ї пари ніжок; 16 – вивідна камера; 17 – серце; 18 – орган виділення (максиллярна залоза); 19 – мандибула; 20 – печінковий відросток; Б – циклоп; В - босміна

Більшість циклопів хижаки, але є також рослиноїдні види. Багато ракоподібних пристосувалося до паразитичного способу життя, що завдають шкоди риbam, на зябрах яких вони живуть, а деякі прісноводі циклопи і діаптомуси є проміжними господарями в життєвому циклі паразитичних черв'яків.

Хід роботи

1. Для проведення лабораторної роботи і спостереження за живими дафніями необхідно мати заздалегідь приготовлену культуру гіллястовусих рачків. Ловлять їх влітку сачком у невеликих водоймах. Водити сачком треба так, щоб не торкатись дна і не набирати водяних рослин. Якщо у водоймі є дафнії, то на дні сачка залишиться червонувата або сірувата маса, яку треба перенести в банку з водою. Взимку дафнії добре виживають у невеликих акваріумах при кімнатній температурі і наявності їжі. їжею для дафній є найпростіші, бактерії, водорості, їжу вносять з акваріумів з найпростішими. Іноді для розвитку бактерій до культури дафній додають невелику кількість бульйону.

2. Для розглядання дафній в склянку або пробірку з водою відберіть 2 - 3 екземпляри дафній і спостерігайте за їх рухом, користуючись ручною лупою.

3. Для детальнішого розгляду будови помістіть одну дафнію в краплину води на предметне скло. Розгляньте спочатку під лупою, а потім при малому збільшенні мікроскопа.

Для роботи необхідні:

1. Склянка з культурою дафній
2. Мікроскопи
3. Ручні лупи
4. Предметні і накривні скельця
5. Пробірки
6. Препарувальні голки.

Питання для самоконтролю:

1. Опишіть сегментацію тіла гіллястовусих ракоподібних.
2. Чим самці нижчих ракоподібних відрізняються від самок?
3. Який характер живлення характерний для нижчих ракоподібних?

4. Яке екологічне значення мають нижчі ракоподібні?
5. Чому сприяє стрибкоподібний характер руху нижчих ракоподібних?
6. Охарактеризуйте систематичне положення дафнії.

Лабораторна робота №12

Тема: ВИВЧЕННЯ ЗОВНІШНЬОЇ МОРФОЛОГІЇ І ВНУТРІШНЬОЇ БУДОВИ ПРЕДСТАВНИКІВ КЛАСУ КІСТКОВІ РИБИ

Мета роботи: Вивчення характерних ознак зовнішньої та внутрішньої будови риб, їх пристосування до водного способу життя.

Основні поняття:

Кісткові риби - клас хребетних тварин, найчисленніша група сучасних риб. Внутрішній скелет більш або менш окостенілий. Тіло вкрите кістковою або ганоїдною лускою. Лопаті плавців підтримуються хрящовими або кістковими променями. Зябра не розділені перегородками, зяброві щілини прикриті кістковою зябровою кришкою. Є плавальний міхур. Запліднення у більшості видів зовнішнє, є живородні форми. Клас об'єднує 3 підкласи: кистепері, дводишні й променевопері. У сучасній фауні налічують близько 20 тис. видів, в тому числі морських та прісноводних риб. Риби мають величезне значення в економіці, природі і житті людини. Вони відіграють роль основного споживача рослинної маси і нижчих тварин водойм, а також продуцентів цінних харчових продуктів і технічної сировини.

Хід роботи:

1. Вивчення зовнішньої морфології риб

Покладіть щойно забиту рибу у ванночку і уважно розгляньте її. В тілі риб розрізняють три відділи: голову, тулуб, хвіст. Межею між головою і тулубом вважають задній край зябрової кришки, а між тулубом й хвостом - анальний отвір. Зверніть увагу на забарвлення тіла: воно темніше на спині, тому воно непомітне у воді при спостереженні зверху.

Черевна частина тіла світліша і зливається зі світлим фоном води. Розгляньте голову, на якій розташовані очі, ніздрі і рот. Ніздрі парні, не наскрізні, розділені шкірною перегородкою на вхідні й вихідні отвори. Щоб переконатися в цьому, введіть препарувальну голку в ніздрі.

Уважно розгляньте рот. Проведіть скальпелем або пінцетом по нижній і верхній щелепі. У багатьох видів риб, в ротовій порожнині розміщені кісткові утвори - зуби, які слугують для захоплення, утримання, роздавлювання, відкушування здобичі.

У всіх риб є тільки внутрішнє вухо, зовнішнього і середнього немає. Боки голови прикриті зябровими кришками, під якими розташований апарат дихання - зябра.

Тіло риби вкрите шкірою, що складається із двох шарів: зовнішнього епідермісу і внутрішнього - коріуму. Епідерміс багатий одноклітинними слизистими залозами.

Слиз, який вони виділяють, зменшує тертя тіла об воду. Розгляньте кісткові лусочки, що залягають в шкірі. Вони утворюють гнучкий і щільний покрив, що захищає тіло від пошкоджень і зменшує тертя об воду. По боках тіла знайдіть і розгляньте бічну лінію, яка тягнеться вздовж тіла від голови до хвоста. Кожна лусочка бічної лінії має отвір і з'єднується з каналом - своєрідним органом чуття, за допомогою якого риба відчуває тиск і рух води, а також це є своєрідний фізіологічний локатор, який дозволяє рибі чути наближення предметів у воді.

На тулубі і хвостовому відділі тіла розташовані непарні і парні плавці, які є органами руху. До непарних плавців належать: хвостовий плавець, що є головним органом поступального руху, спинний і анальний плавці, які надають тілу риби стійкості. До парних плавців належать грудні і черевні, що виконують функцію керма повороту і глибини.

Завдання 1. Намалювати в зошиті контур тіла дослідного екземпляра риби, бічну лінію, парні і непарні плавці.

2. Розтин і вивчення внутрішньої будови риб

Візьміть рибу у ліву руку, зробіть ножицями невеликий поперечний розріз трохи спереду анального отвору. В розріз вставте кінець ножиців і продовжуйте його на черевному боці вперед до краю

рота. Кінець ножиців весь час злегка піднімайте, щоб не пошкодити внутрішні органи.

Знову вставте кінець ножиців в розріз анального отвору і видаліть бічну ліву стінку тіла (виявиться порожнина тіла з розташованими в ній органами). Розрізану рибу покладіть у лоток з водою.

Користуючись малюнком (рис. 12.1), знайдіть зябра - органи дихання риби, серце, кишки, плавальний міхур, органи розмноження.

Зверніть увагу на форму і розміри шлунка, частина якого прикрита великою світло-бурою або червонуватою печінкою. Від шлунка відходить кишка з трьома придатками, які створюють велику всмоктувальну поверхню. Кишка утворює петлі і закінчується анальним отвором. Обережно пінцетом розплутайте кишечник, розтягніть його в довжину. При цьому підріжте тонку перетинку, що з'єднує його петлі, видаліть жир, який вкриває кишечник. В одній із петель кишечника помітна селезінка вишневого кольору.

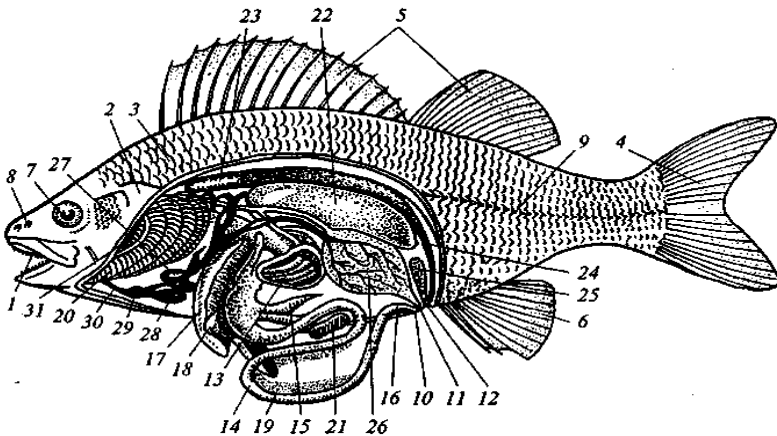


Рис.12.1 Внутрішня будова окуня:

1 – рот із зубами; 2 – зяброва кришка (частина її видалена); 3 – кісткова луска; 4 – хвостовий плавець; 5 – спинні плавці; 6 – анальний плавець; 7 - око; 8 – ноздря; 9 – бічна лінія; 10 – анальний отвір; 11 – статевий отвір; 12 – видільний отвір; 13 – вскритий шлунок із поздовжніми смужками; 14 – кишечник; 15 – пілоричні придатки; 16 - пряма кишка; 17 – печінка; 18 - жовчний міхур; 19 – підшлункова залоза; 20 – зяберні пелюстки; 21 – селезінка; 22 – плавальний міхур; 23 – нирка; 24 – сечовід; 25 – сечовий міхур; 26 – яєчник; 27 – передсердя; 28 – шлуночок; 29 – луковича аорти; 30 – черевна аорта; 31 – зяброві пелюстки.

Завдання 2. Оформити результати вивчення внутрішньої будови риб у вигляді таблиці 12.1.

Таблиця 12.1

Внутрішня будова риб

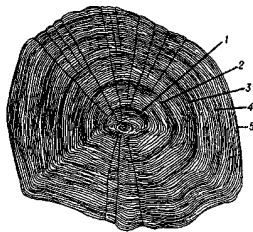
Система травлення	Органи дихання	Кровоносна система	Органи виділення	Органи розмноження	Центральна нервова система

3.Визначення віку риб за структурними елементами

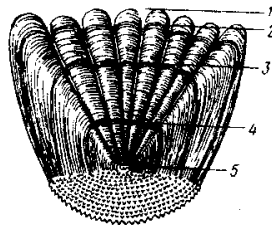
Принцип визначення віку риб базується на властивостях структурних елементів риб (луска, отоліти, промені плавців) створювати нашаровування у вигляді переміжних валиків (склеритів), площин, кілець, шарів, по кількості яких встановлюють вік риби.

Для визначення віку риб найбільше поширення має кісткова луска. Існує прямо пропорційна залежність між радіусами річних кілець, що утворюються на лусці, та лінійними розмірами риби протягом життя.

Відстань між сусідніми валиками-склеритами може бути різною. При уважному розгляді луски можна помітити, що частина склеритів, відносно далеко розташованих один від одного, чергуються зі склеритами, які дуже зближенні між собою. У першому випадку кажуть про "зону широких склеритів", у другому - про "зону вузьких склеритів". На протязі одного року на лусці риб, як правило, формується одна зона вузьких і одна зона широких склеритів - річне кільце. Таким чином, кількість річних кілець (пар зон) відповідає віку риб, який виражається у роках (рис. 12.2).



а - циклоїдний тип



б - ктеноїдний тип

Рис.12.2 Річні кільця (1 - 5) на кістковій лусці плітки (а) і окуня (б)

Завдання 3. Висмикнути пінцетом лусочку дослідного екземпляру риби, і розглянути при малому збільшенні мікроскопа. За концентричними шарами, розташованими паралельно до зовнішнього краю лусочки, визначити вік риби і умови життя в різні роки. Замалювати лусочку.

Для роботи необхідні:

1. Свіжа забита риба
2. Лоток
3. Пінцет
4. Препарувальні голки
5. Скальпель
6. Мікроскопи
7. Предметні та накривні скельця

Питання для самоконтролю:

1. На які основні відділи поділене тіло риб?
2. Яке призначення має бічна лінія на тілі риб?
3. Якими органами представлена система травлення риб?
4. Які органи входять до кровоносної системи риб?
5. Чим відрізняється будова та місце розташування серця кісткових риб від будови і розташування цього органа в інших хребетних тварин?
6. Яку інформацію про організм риби дає можливість отримати аналіз розміщення склеритів?
7. За якими зовнішніми ознаками тіла риби можна оцінити її загальний фізіологічний стан?
8. Перелічіть функції шкіри риби.
9. Які функції виконує слиз?
10. Визначте площу поверхні тіла риб (S , дм^2) масою 0,1; 0,5; 1,5 і 10 кг, якщо залежність цього показника від маси тіла (M_T , кг) описує рівняння:

$$S = 10M_T^{0,67}$$

Поміркуйте, які системи регуляції організму залежать від площі поверхні тіла.

Лабораторна робота №13

Тема: УТВОРЕННЯ, БУДОВА ТА ХІМІЧНИЙ СКЛАД ПТАШИНОГО ЯЙЦЯ

Мета роботи: Ознайомитись з особливостями утворення яєць, вивчити їх будову та виявити особливості завдяки яким створюються умови для нормального розвитку зародку птахів.

Основні поняття

Утворення яйця. Яйця утворюються в яєчнику і яйцепроводі птаха. Яєчник являє собою непарний орган, розташований в черевній порожнині ліворуч від хребта в області нирок. У яєчнику дорослої самиці міститься декілька сотень незрілих статевих клітин.

На початок яйцекладу статеві клітини ростуть, накопичуючи поживні речовини і перетворюючись на жовтки. Періодично, не частіше, ніж раз на добу, зрілий жовток прориває тканину яєчника (фолікул) і потрапляє в яйцепровід. Цей процес називається овуляцією.

Яйцепровід птаха має форму довгої звивистої трубки. Він оточений іншими органами і підтримується в черевній порожнині зв'язками. Передня, трохи розширена частина яйцепроводу (лійка) відкрита в черевну порожнину в ділянці яєчника, а задня впадає в клоаку. Жовток (зріла статеві клітина) поступає в лійку і завдяки хвилеподібним рухам яйцепроводу, повільно обертаючись, просувається далі; в цей час залози стінок яйцепроводу виділяють яєчний білок, який нашаровується на жовток.

У спеціальному відділі яйцепроводу яйце покривається підшкаралупними оболонками.

Матка розташована в нижній частині яйцепроводу; тут яйце залишається 16-19 годин. У матці утворюється шкаралупа. Повністю сформоване яйце переміщається в клоаку і виводиться назовні.

Будова яйця. Сформоване яйце складається зі шкаралупи (12%), білка (56%), жовтка (32%).

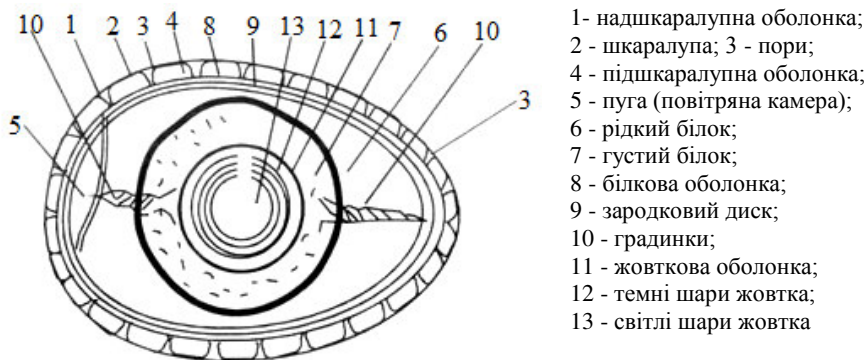


Рис. 13.1 Будова курячого яйця

Жовток яйця займає приблизно 1/3 його ваги і має майже кулясту форму. Зовні жовток укриває тонка жовткова оболонка; на поверхні жовтка можна побачити округлу світлу пляму - бластодиск, де до запліднення знаходилося ядро яйцеклітини. До оболонки жовтка прикріплюються канатики, які складаються з густого білка. Тому він неначе підвішений на канатиках і перебуває всередині яйця. Жовток неоднорідний: в ньому чергуються світлі і темні концентричні шари (не менше шести пар). Темні шари жовтка густіші: вони містять більше сухих речовин. Дуже тонкий шар світлого жовтка лежить зовні, під жовтковою оболонкою, і, розширюючись, заповнює простір під бластодиском; тут шар світлого жовтка утворює випинання до центру латєбри, яка за формою нагадує колбу. Через нерівномірне розташування легких і важких шарів жовток в яйці завжди повертається догори тим полюсом, де знаходиться бластодиск. Під мікроскопом видно, що жовток складається з рідкої плазми, в якій суспендовані жовткові кульки; останні, у свою чергу, заповнені дрібними зернами, багатими на протеїни і жири.

Яєчний білок має чотири шари: внутрішній (градинковий) шар складається з переплєтених щільних волокон і тонкою сіткою оточує жовток. За поздовжньою віссю яйця градинковий шар переходить в два шнури - градинки, що прикріплені до підшкаралупових оболонок. Градинки утримують жовток в центрі яйця, дають йому можливість обертатися і перешкоджають спливанню жовтка до шкаралупи. Градинковий шар оточений внутрішнім рідким білком, а той у свою чергу - зовнішнім щільним і зовнішнім рідким шарами.

Білок яйця вкритий двома підшкаралупними оболонками, які щільно прилягають один до одного і до шкаралупи, але на тупому кінці яйця розходяться, утворюючи повітряну камеру. Підшкаралупні оболонки складаються з невеликої кількості солей кальцію і густої сітки волокон органічного походження. Оболонки яйця пропускають газу, але непроникні для рідин.

Яєчна шкаралупа складається з внутрішнього і зовнішнього шару. Товщина шкаралупи неоднакова у різних видів птаха: у курячого яйця вона близько 0,3 мм, трохи товще на гострому кінці яйця і трохи тонше - на тупому. Уся поверхня шкаралупи має дрібні пори: в курячому яйці їх 6-8 тисяч, причому більше на тупому і менше на гострому кінці яйця. Колір шкаралупи може бути різний. Поверхня шкаралупи тільки що знесеного яйця здається матовою, тому що вона вкрита тонким шаром слизу з яйцепроводу, який легко стирається, проте певною мірою захищає пори від забивання брудом (цей шар називають надшкаралуповою плівкою).

Форма яєць свійських птиць овальна: довжина яйця приблизно у півтора рази більше ширини.

Хімічний склад яйця. Функція яйця - створення нового живого організму, потреби якого мають повністю забезпечуватись за його ж рахунок. Тому склад харчових речовин яйця є різноманітним та багатим.

Білок яйця містить легкозасвоювані білкові речовини, ферменти, вітаміни групи *B*, вуглеводи білка представлені глюкозою, з мінеральних речовин у білку виявлено натрій, калій, кальцій, залізо, фосфор, хлор, сірка, магній, йод, цинк, свинець, марганець. Жири в складі білку відсутні. Сухі речовини білка представлені протеїнами: *альбуміном* - зумовлює розчинність білка у воді та добру його засвоюваність, *глобуліном* - зумовлює піноутворюючу здатність. Ферменти білка *мукоїд*, *муцин* відповідають за стабільність, стійкість піни, *лізоцим* - володіє бактерицидними властивостями.

Реакція білка слаболужна, питома вага - близько 1,045. Коагуляція білка відбувається при 58-65°C. Енергетична цінність яєчного білка складає 47ккал/100г.

Жовток містить до 20% жирів (у складі молекул якого 70% ненасичених жирних кислот), до 10% фосфоліпідів, з них *лецитину* - 8%. У складі яєчного жиру 70% ненасичених жирних кислот - олеїнової, лінолевої, ліноленої. Крім того, у жовтку містяться

вуглеводи (глюкоза й галактоза), каротиноїди, гормони, холестерин, вітаміни А, Д, Е, К, усі вітаміни групи В, мікро- й макроелементи. Майже наполовину жовток складається з води.

Реакція жовтка слабокисла, питома вага - близько 1,3. Енергетична цінність яєчного жовтка складає 370ккал/100г.

До складу *шкаралупи* входять вода, органічні речовини і приблизно 95 % неорганічних з'єднань; це переважно карбонат кальцію.

Хід роботи:

1. Розгляньте яйце. Яка його форма, чим вона зумовлена?
2. Розгляньте шкаралупу, до якої наливали підфарбовану воду. Чому зовнішня сторона шкаралупи зафарбувалась?
3. На тупому кінці яйця знайдіть повітряну камеру. Як вона утворюється? Яке її значення?
4. Розгляньте яйце вилите до чашки Петрі. Розгляньте жовток яйця. Яка його форма? Чому в обережно вилитого яйця жовток не розтікається? Знайдіть у жовтку пляму. Що це таке?
5. Розгляньте канатики (халази), що відходять від жовтка. Що вони собою являють? Яке їх значення?
6. Результати роботи записати у вигляді таблиці 13.1.

Таблиця 13.1

Результати вивчення будови яйця

Назва оболонки	Особливості будови яйця	Значення
Надшкаралупова		
Шкаралупа (вапняна)		
Підшкаралупова		
Білок		
Жовткова оболонка		
Жовток (дейтоплазма)		

Для роботи необхідні:

1. Чашка Петрі
2. Ручна лупа
3. Сире куряче яйце
4. Шкаралупа яйця з профарбованими порами

Питання для самоконтролю:

1. Що являє собою білкова оболонка яйця, яка оточує жовток?
2. Яку назву має внутрішня сторона шкаралупи яйця?
3. Завдяки чому вміст яйця виявляється захищеним від мікробів?
4. Як відбувається утворення пташиних яєць?
5. Охарактеризуйте хімічний склад білку яйця.
6. Охарактеризуйте хімічний склад жовтку яйця.
7. Яке значення має повітряна камера на тупому кінці яйця?
8. Що собою являють підшкаралупні оболонки яйця? Яке їх значення?

Лабораторна робота №14

Тема: МІКРОФЛОРА ОРГАНІЗМУ ЛЮДИНИ

Мета роботи: Ознайомитись з різноманітністю видового складу, формами та функціями мікрофлори людини. Оволодіти методикою виготовлення фіксованих та фарбованих препаратів.

Основні поняття

Мікрофлора людини - мікроорганізми, що мешкають на шкірі і слизових оболонках, що знаходяться в стані динамічної рівноваги один з одним і з організмом людини. Нормальний стан мікрофлори називається *еубіоза*. Мікрофлора людини - важлива метаболічна система, що бере участь в адсорбції і перенесенні в організм людини як корисних, так і потенційно шкідливих агентів. Мікрофлора людини вносить значний внесок у морфогенез тканин, метаболізм вуглеводів, азотистих сполук, стероїдів, водно-сольовий обмін, в детоксикацію різних речовин, утворення мутагенів і антимутагенів, в імунітет і т.д.

Найважливішою функцією мікрофлори є її участь у формуванні колонізаційної резистентності, під якою мається на увазі сукупність механізмів, що додають стабільність нормальній мікрофлорі і забезпечують запобігання колонізації організму людини сторонніми мікроорганізмами.

Мікрофлора поділяється на дві групи: 1) *постійна (резидентна)* - непатогенні бактерії на шкірі та в порожнинах тіла, які називають нормальною мікрофлорою; 2) *факультативна (транзиторна)* - непатогенні і патогенні бактерії, що знаходяться в організмі тимчасово, потрапляючи сюди з повітрям, водою та їжею.

Взагалі, бактеріальна мікрофлора має або сферичну форму - так звані коки (від грецького слова *kókkos* - зерно або ягода), або паличковидну - так звані бацили (від латинського слова *bacillus* - паличка). Деякі паличковидні бактерії (вібріони) дещо зігнуті, а інші формують спіральні завитки (спірохети) (рис. 14.1).

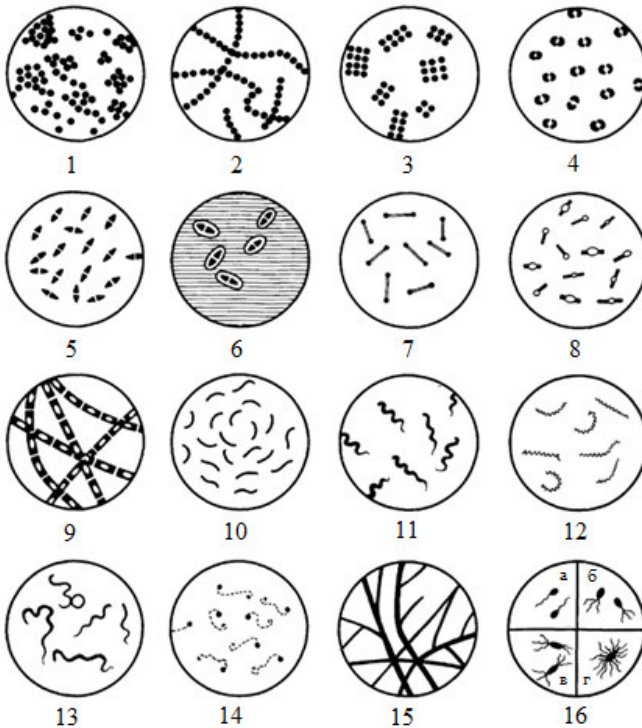


Рис. 14.1 Основні форми бактерій: 1 – стафілококи; 2 – стрептококи; 3 – сарцина; 4 – гонококи; 5 – пневмококи; 6 – капсула пневмококів; 7 – коринібактерії дифтерії; 8 – клостридії; 9 – бацили; 10 – вібріони; 11 – спірили; 12 – трепонеми; 13 – борелії; 14 – лептоспіри; 15 – актиноміцети; 16 – розташування джгутиків: а – монотрихі; б – лототрихі; в – амфітрихі; г – перитрихі.

Основу мікрофлори (МФ) людини складають облигатні-анаеробні бактерії. Навіть на шкірі, в її глибоких шарах число анаеробів в 3-10 разів перевищує кількість аеробних бактерій. У порожнині рота та в товстій кишці їх співвідношення може збільшуватися до 1000:1.

На склад МФ людини може впливати стать, вік, продукти харчування, клімат, використання лікарняних препаратів тощо.

Представників нормальної МФ поділяють на декілька груп:

Мікрофлора зовнішніх покривів. Непатогенна: сарцини, дифтероїди, плісняві та дріжджові гриби, *Staphylococcus epidermis*, мікрококи. Патогенна та умовно-патогенна: *E. coli* (свідчить про фекальне збруднення шкіри), *Staphylococcus aureus*, а-гемолітичні та негемолітичні стрептококи, клостридії, плісняві, дріжджові та недосконалі гриби, спори аеробних і анаеробних бацил. Мікроорганізми нормальної МФ шкіри є, переважно, сапрофітами та не можуть викликати захворювань, якщо шкіра не пошкоджена. Вони захищають шкіру, пригнічуючи розвиток патогенних бактерій, які можуть сюди потрапляти. Але викликають неприємний запах шкіри.

Мікрофлора відкритих порожнин. Мікрофлора порожнини рота різноманітна, оскільки волога, температура, рН створюють сприятливі умови для розвитку мікроорганізмів. У ротовій порожнині та зубному нальоті мешкають більше 100 видів бактерій: вібріони, спірили, спірохети, гриби, палички і т.д. (непатогенна: *Str. salivarius*, *str. mitior*, гриби *Candida*, нейссерії, актиноміцети, лактобактерії; патогенна: анаеробні бактероїди, фузобактерії, вейлонелли, актиноміцети, спірохети родів *Leptospira*, *Borrelia*, *Treponema*, мікоплазми). Мікроорганізми порожнини рота відіграють важливу роль у виникненні захворювань ясен і зубів, зокрема карієсу, стоматиту. В порожнині носу постійно містяться декілька видів стрептококів, стафілококів, дифтероїдів, багато вірусів, в тому числі аденовіруси. У верхніх дихальних шляхах затримується більшість мікроорганізмів, що надходять з повітря при вдиханні (*Bacteroides*, *Branhamella*, *Corynebacterium*, *Neisseria*, *Streptococcus*). У бронхіальних трахеолах та альвеолах мікроорганізми практично відсутні. Бактерії слизових оболонок очей - стафілококи, мікоплазми, *Corynebacterium xerosis*.

Мікрофлора шлунково-кишкового тракту. У шлунку більшість мікроорганізмів що надходять ззовні гинуть внаслідок кислої реакції середовища. Зниження кислотності шлункового соку призводить до розвитку у шлунку багатой мікрофлори. Тут зустрічаються

молочнокислі бактерії, *Sarcina ventriculus*, *Bac. subtilis*, дріжджі. Можуть проникати дизентерійні, черевотифозні, паратифозні бактерії, холерні вібріони та інші патогенні мікроорганізми.

У тонкому кишечнику відбувається підвищення лужності середовища та створюються більш сприятливі умови для розвитку мікроорганізмів. У товстій кишці близько 260 видів мікроорганізмів, серед яких переважають анаероби, ліпідо-бактерії, протеї, гриби, *Str. Faecalis*. Через велику кількість фекальних мас тут мешкають *E. coli* (в тому числі і патогенні сірковари), біфідобактерії (сприяють перетравленню їжі, синтезують вітаміни та є фактором імунітету, пригнічуючи розвиток патогенних бактерій), бактероїди, лактобацили, ентерококи, стафілококи, *Clostridium perfringens*, *Proteus vulgaris*.

Порушення видового складу нормальної МФ під впливом різних факторів, що характеризується змінами співвідношення різних видів бактерій називається *дисбактеріоз* (як правило, трапляється у кишечнику). Внаслідок, різко знижується вміст біфідобактерій, збільшується вміст стафілококів, у тому числі гемолітичних, *Candida*, змінених кишкових паличок.

Хід роботи:

1. Виготовлення мазка

- на знежирене предметне скло наносять краплю стерильної води і суспендують у ній невелику кількість клітин мікроорганізмів, відібраних із зубного нальоту людини за допомогою бактеріальної петлі. Отриману суспензію рівномірно розтирають на площі 1-2 см². Мазок повинен бути тоненьким, рівномірним за товщиною, овальним за формою;
- за допомогою стерильної ватної палички роблять відбір зі слизової оболонки ротової порожнини, після чого паралельними лініями наносять тонкі рівномірні мазки по всій поверхні знежиреного предметного скла.

2. Висушування та фіксація мазка

Мазок висушують при кімнатній температурі на повітрі.

Фіксація мазка передбачає декілька моментів: убити (знешкодити) клітини мікроорганізмів; забезпечити краще прилипання клітин до скла; зробити мазок більш сприйнятливими до барвників.

Найбільш розповсюдженим методом фіксації є термічна обробка. З цією метою препарат тричі проводять через полум'я пальника,

тримаючи скло мазком вгору. Мазок не треба перегрівати, так як при цьому відбуваються грубі зміни клітинних структур, а інколи їх морфології. Для вивчення тонкої будови клітини використовують фіксацію хімічними рідинами.

3. Фарбування

Проводять просте фарбування клітини, при якому добре видно її форму й розміри. Для цього використовують якийсь один барвник (генціановий фіолетовий, метиленовий синій, фуксин). Фіксований препарат кладуть на паралельні скляні рейки (місток) над кристалізатором (кюветою) і заливають препарат фарбою на 1-3 хв.

Після закінчення фарбування препарат промивають водою до тих пір, поки вода не стане безкольорною.

4. Мікроскопіювання

Виготовлені препарати знову висушують на повітрі і розглядають у мікроскоп.

Обране поле зору замальовують у зошит, вказують загальне число мікроорганізмів у кожному з мазків та їх кількість відповідних форм. Проводять порівняння отриманих результатів мікроскопіювання обох мазків. Формулюють висновки.

Для роботи необхідні:

1. Мікроскопи
2. Бактеріальні петлі та стерильні ватні палички
3. Предметні та покривні скельця
4. Розчин метиленового синього
5. Кристалізатори з містками
6. Промивалки
7. Дистильована вода

Питання для самоконтролю:

1. На які групи поділено мікрофлору людини?
2. Що вважається нормальною мікрофлорою людини?
3. Назвіть представників мікрофлори зовнішніх покривів.
4. Чим небезпечно для людини збільшення кількості патогенної МФ?
5. Що означають терміни еубіоза та дисбактеріоз?
6. Назвіть етапи виготовлення фіксованих фарбованих препаратів.

Лабораторна робота №15

Тема: МІКРОСКОПІЧНА БУДОВА ФОРМЕНИХ ЕЛЕМЕНТІВ КРОВІ

Мета роботи: Дослідити та порівняти будову формених елементів крові людини та риби. Оволодіти методами взяття, виготовлення мазків і розгляду крові риби. Навчитися виявляти взаємозв'язок будови та функцій формених елементів крові, зокрема еритроцитів, з інтенсивністю обміну речовин та енергії.

Основні поняття

Кров - рідка сполучна тканина, що складається з плазми і формених елементів (клітин) (рис. 15.1), яких у хребтних тварин і людини є 3 групи:

Червоні кров'яні тіลця (еритроцити) - найчисленніші з формених елементів. Зрілі еритроцити не містять ядра і мають форму двоввігнутих дисків. Циркують 120 днів і руйнуються в печінці й селезінці. В еритроцитах міститься білок із іонами заліза - гемоглобін, який забезпечує головну функцію еритроцитів - транспорт газів, у першу чергу - кисню. Саме гемоглобін надає крові червоне забарвлення. У легенях гемоглобін зв'язує кисень, перетворюючись на оксигемоглобін, він має світло-червоний колір. У тканинах кисень звільняється, знову утворюється гемоглобін, і кров темніє. Крім кисню, гемоглобін у формі карбогемоглобіну переносить з тканин у легені і невелику кількість вуглекислого газу.

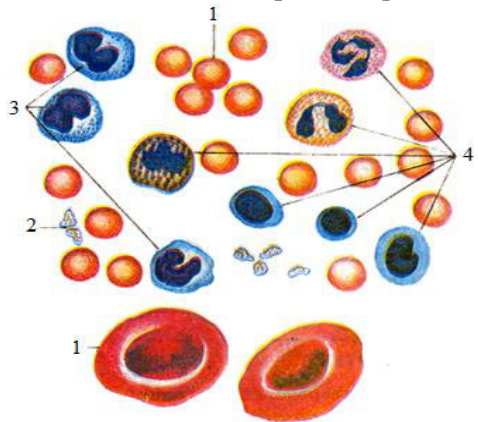


Рис. 15.1 Формені елементи крові: 1 - еритроцити; 2 - тромбоцити; 3 - лейкоцити; 4 - різні форми лейкоцитів.

Кров'яні пластинки (тромбоцити) є обмежені клітинною мембраною фрагменти цитоплазми гігантських клітин кісткового мозку мегакаріоцитів. Спільно з білками плазми крові (наприклад, фібриногеном) вони забезпечують згортання крові, яка витікає з пошкодженої судини, приводячи до зупинки кровотечі, і в такий спосіб захищають організм від небезпечної для життя крововтрати.

Білі клітини крові (лейкоцити) є частиною імунної системи організму. Всі вони здатні до виходу за межі кров'яного русла в тканини. Головна функція лейкоцитів - захист. Вони беруть участь в імунних реакціях, виділяючи при цьому Т-клітини, які розпізнають віруси та різноманітні шкідливі речовини, В-клітини, що виробляють антитіла, макрофаги, які знищують ці речовини. За норми лейкоцитів у крові набагато менше, ніж інших формених елементів.

Еритроцити в кров'яному руслі є носіями групових властивостей. Формені елементи звичайно становлять 40-45% об'єму крові, плазма - 55-60%. Відносна сталість кількості формених елементів крові регулюється нейрогуморальними механізмами. До складу крові входять білки, вуглеводи, ліпіди, мінеральні речовини, вода.

Хімічний склад, реакція середовища (рН) та інші хіміко-фізичні параметри крові відносно сталі. Це забезпечується механізмами гомеостазу. Кількість крові у безхребетних тварин по відношенні до маси тіла коливається від 20 до 60 %, у хребетних - від 1,7 до 10 %, у людини - близько 7 %. При різних патологічних станах організму можуть виникати зміни в крові, дослідження яких має велике діагностичне значення. Вивченням крові займається *гематологія*.

У всіх хребетних кров має зазвичай червоний колір (від блідо- до темночервоного), яким вона зобов'язана гемоглобіну, що міститься в еритроцитах. У деяких молюсків і членистоногих кров має блакитний колір завдяки гемоціаніну.

Хід роботи:

Кров людини

Через відсутність ядра еритроцит людини засвоює у 200 разів менше кисню для власних потреб, ніж його ядерні попередники. Забезпечуючи киснем увесь організм, він витрачає на себе мізерну частину того кисню, який переносить. Внаслідок відсутності процесів регенерації, еритроцити мають тривалість життя лише близько 120 діб. Вони гинуть у печінці та селезінці. В одному літрі крові здорової

людини міститься $4\text{-}5 \times 10^{12}$ еритроцитів, а всього людина має 25 трлн. цих клітин.

1. Розглянути препарат крові людини під малим, потім під великим збільшенням.

2. Звернути увагу на відносні розміри та кількість еритроцитів і лейкоцитів?

3. Замалювати 3-4 еритроцити та один лейкоцит, позначте клітини та ядро лейкоцитів.

Кров риби

Кількість крові у риб відносно менша, порівняно з іншими хребетними тваринами (1,1 – 4,7%). Це пов'язано з горизонтальним положенням тіла та меншими енергетичними затратами. Кількість еритроцитів у крові риб також менша, ніж у вищих хребетних, перш за все це залежить від рухливості риб: у коропа – 0,84-1,89; щуки – 2,08 млн./мм³ крові. В еритроцитах риб, як і в інших водних тварин, на відміну від ссавців, є ядро.

1. Взяття крові риб проводять з хвостової артерії - відрізанням хвоста риби ножицями або ножом. Перед дослідженням місце, звідки планують брати кров, очищують від слизу і надлишку вологи.

2. Невеличку краплю взятої від риби крові наносять на предметне скло на відстані 1-1,5 см від його кінця. Великим і вказівним пальцями правої руки беруть за ребро шліфоване скло, встановлюють його до поверхні предметного скла під кутом 30-45° і акуратно підводять тильним боком до краплі крові, в результаті чого остання розтікається. Потім ковзним рухом шліфованого скла вперед кров рівномірно розподіляють у вигляді мазка по предметному склу.

Правильно приготовлений мазок має бути рівномірним, поступово сходити нанівець, не мати розривів.

3. Готовий мазок підсушують на повітрі, помахуючи препаратом до зникнення вологого блиску.

4. Сухий мазок фіксують у 96° спирті (у стаканчиках) 5-10 хв. Після закінчення фіксації препарат виймають зі спирту пінцетом, розміщують вертикально на фільтрувальний папір та очікують випаровування спирту.

5. Фарбують мазки азур-еозином за Романовським з розрахунку 10-12 крапель фарби на 10 мл дистильованої води. Фіксований мазок розміщують у у чашках Петрі з фарбою на 15-20 хвилин.

6. Ретельно промивають у дистильованій воді та підсушують фільтрувальним папером.

7. Виготовлений мазок розглядають спочатку при малому, потім при великому збільшенні, звертають увагу на відносну величину, форму та кількість еритроцитів та лейкоцитів у препараті.

8. Замальовують 3-4 еритроцити та один лейкоцит, з позначенням клітин та їх ядра.

Для роботи необхідні:

1. Мікроскопи
2. Готові препарати крові людини
3. Предметні шліфовані скельця
4. Чистий 96° спирт
5. Фарба азур-еозин за Романовським
6. Дистильована вода
7. Стаканчики
8. Чашки Петрі
9. Фільтрувальний папір

Питання для самоконтролю:

1. Чому у крові еритроцитів набагато менше ніж еритроцитів?
2. Які функції виконують тромбоцити крові?
3. Яка подібність та відмінність існує у будові та формі еритроцитів крові людини і риби?
4. Чия кров – людини чи риби здатна переносити більше кисню? Відповідь обґрунтуйте.
5. Обґрунтуйте взаємозв'язок будови еритроцитів людини з інтенсивністю обміну речовин та енергії.
6. Уявіть, що в крові ссавця раптово зруйнувались всі еритроцити. До яких наслідків це призведе?
7. Чому протягом трьох-чотирьох годин після приймання їжі вміст лейкоцитів у крові людини підвищений?

ПОРЯДОК ПІДГОТОВКИ, ВИКОНАННЯ, ОФОРМЛЕННЯ ТА
ЗАХИСТУ ЛАБОРАТОРНИХ РОБІТ

Загальні вимоги

На першому занятті в лабораторії студенти детально вивчають на робочих місцях правила внутрішнього розпорядку і інструкції з техніки безпеки, яких вони повинні суворо дотримуватись під час роботи в лабораторії.

Правила внутрішнього розпорядку в лабораторії складаються з таких основних вимог:

1. До роботи в лабораторії допускаються особи, які засвоїли правила з техніки безпеки та пройшли інструктаж з відповідною відміткою про це в спеціальному журналі з техніки безпеки.
2. Лабораторні роботи виконують за розкладом навчальних занять. Відпрацювання пропущених лабораторних робіт здійснюється за графіком, що узгоджений з навчальною частиною.
3. Лабораторні роботи виконуються бригадами (2–3 чоловіки).
4. До роботи в лабораторії допускаються студенти, які виконали і захистили попередню лабораторну роботу.
5. При підготовці до лабораторної роботи студент зобов'язаний ознайомитись з теоретичними відомостями до виконання лабораторної роботи.
6. Перед початком занять викладач шляхом опитування визначає підготовку студента до поточної роботи. Непідготовлені студенти допускаються до виконання лабораторної роботи лише після додаткової підготовки безпосередньо в лабораторії.
5. Оформлення лабораторної роботи необхідно робити відразу ж після закінчення досліду (індивідуально). Захист роботи відбувається перед наступним заняттям. Оцінка за захищену лабораторну роботу заноситься в журнал обліку роботи викладача.

Техніка безпеки

- Не починати здійснення дослідів поки не стане зрозумілою його мета та поки не буде перевірено обладнання.
- При роботі точно дотримуватись порядку і послідовності операцій, зазначених у вказівках до виконання роботи.
- Користуватись лише приладами і матеріалами, приготовленими для даної лабораторної роботи.
- *Забороняється* досліджувати властивості речовин та біологічних об'єктів без дозволу викладача.
- *Забороняється* пити воду з лабораторного посуду.
- *Забороняється* проводити додаткові дослідів без дозволу викладача.
- *Забороняється* нюхати гази, що виділяються, близько нахилиючись до посудини.
- В лабораторії *забороняється* смітити, знаходитись у верхньому одязі, без необхідності переходити з місця на місце і захарашувати робочі місця сторонніми предметами.
- Під час лабораторної роботи дотримуватись тиші і порядку.

Оформлення звіту про виконання лабораторної роботи

Оформлення лабораторних робіт здійснюють в учнівських зошитах формату А-5.

Посередині рядка записують номер лабораторної роботи. Далі, кожен раз з нового рядка записують тему і мету роботи.

Спочатку коротко конспектуються основні теоретичні відомості, що відповідають темі роботи. Після рядка «хід роботи» коротко поетапно описується виконання роботи.

Малюнки повинні мати розмір не менше, ніж 6×6 см. Не обов'язково малювати все, що видно в мікроскоп, достатньо замалювати невеликий фрагмент. Всі малюнки повинні мати позначення складових частин. В іншому випадку знижується оцінка.

Малюнки повинні розташовуватись на лівій стороні листа зошиту, підписи до малюнків - знизу.

Таблиці заповнюються чітко і акуратно. Таблиця повинна займати всю ширину сторінки.

Схеми повинні бути великими і чіткими, виконані простим олівцем (допускається використання кольорових олівців), містити тільки головні, найбільш характерні особливості та деталі.

В кінці кожної лабораторної роботи обов'язково записується висновок за підсумками виконаної роботи (висновок формулюється виходячи з мети роботи).

Лабораторна робота без висновку може бути не оцінена.

Критерії оцінювання лабораторних робіт

При оцінці результативності виконання лабораторної роботи викладач використовує такі критерії:

- вміння студента застосовувати теоретичні знання при виконанні роботи;
- вміння користуватися приладами, інструментами, самостійність при виконанні завдання;
- темп і ритм роботи, чіткість і злагодженість виконання завдання;
- досягнення необхідних результатів;
- формулювання висновку про результати дослідження та оформлення результатів роботи.

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Біологія: Навч. посіб. / А.О. Слюсарев, О.В. Самсонов, В.М. Мухін та ін.; За ред. Та пер. З рос. В.О. Мотузного. – 9-ге вид., стер. – К.: Вища шк., 2007. – 622 с.
2. Цитологія: Навч. посіб./ І.В. Шуст, В.В. Грубінко, Н.М. Страшнюк. – Тернопіль: Підручники і посібники, 2007 – 128 с.
3. Мусієнко М.М. Фізіологія рослин: Підручник. – Фітосоціоцентр, 2001. – 392 с.
4. Мусієнко М.М. Фотосинтез. К.: Вища шк.. – 1995.- 247 с.
5. Фізіологія рослин: практикум / О.В. Воцехівська, А.В. Капустян, О.В. Косик та ін. За аг. ред. Т.В. Паршикової. – Луцьк: Терен, 2010. – 420 с.
6. Гродзинский Д.М. Надежность растительных систем. – К.: Наук. Думка, 1983. – 366 с.
7. Деверолл В.Дж. Защитные механизмы растений. – М.: Мир, 1980. – 126 с.
8. Догель В.А. Зоология беспозвоночных. – М.: Высшая школа, 1981. – 606 с.
9. Зоологія безхребетних. Лабораторний практикум. Посібник./ В.І. Кваша, Б.Р. Пилявський, С.С. Подобівський - Тернопіль: Навчальна книга – Богдан, 2001. – 144 с.
10. Смит Л.С. Введение в физиологию рыб. – М.: Агропромиздат, 1986. – 168 с.
11. Фізіологія рыб: Практикум: Навч. Посіб./ П.А. Дехтярьов, І.М. Шерман, Ю.В. Пилипенко та ін. – К.: Вища шк., 2001. – 128 с.
12. Андreyк Е.И., Валагурова Е.В. Основы экологии почвенных микроорганизмов. Киев: Наукова думка, 1992. – 223 с.
13. Сердюк В.О. Основы анатомії та фізіології тварин. Навчальний посібник для учнів та вчителів. - Київ, 2008. – 110 с.
14. Руководство к практическим занятиям по микробиологии: Учебн. Пособие \ Под ред. Н.С. Егорова. – 3-е изд., перераб. и доп. – М.: Изд-во МГУ, 1995. – 224 с.
15. Атлас по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии: Учеб. пособие/ Под ред. А.А. Воробьева, А.С. Быкова – М.: Медицинское информационное агенство, 2003. – 236 с.