

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 3

ВИЗНАЧЕННЯ ОСМОТИЧНОГО ПОТЕНЦІАЛУ КЛІТИННОГО СОКУ ПЛАЗМОЛІТИЧНИМ МЕТОДОМ

Осмотичний тиск — це тиск розчину на напівпроникну перетинку, яка відокремлює його від розчинника (води), або від розчину з меншою концентрацією. Осмотичний тиск тим вищий, чим більш концентрований розчин.

Проявом осмотичних властивостей рослинних клітин є явище плазмолізу. Тобто, внаслідок дії плазмолітиків на клітину більш концентрований розчин відбирає воду від вакуолі, зменшуючи її об'єм і шар цитоплазми, що був притиснутий вакуолею до оболонки, відстає від останньої. При деплазмолізі кількість води в клітині поступово збільшується, об'єм вакуолі зростає, клітинний сік тисне на цитоплазму і притискає її до клітинної оболонки. Клітинна оболонка розтягується під впливом внутрішнього тиску і клітина переходить в стан тургору. Таким чином, за допомогою плазмолітичного методу ми можемо визначити величину осмотичного потенціалу клітини і відповідно концентрацію клітинного соку, який являє собою розчин мінеральних і органічних речовин.

Плазмолітичний метод визначення осмотичного тиску клітинного соку полягає в тому, що підготовлені об'єкти занурюють в розчини різних концентрацій і досліджують їх під мікроскопом для виявлення ізотонічного розчину.

Беручи до уваги те, що явище плазмолізу можна спостерігати лише в розчинах плазмолітиків, знаходять таку концентрацію, при якій відбувається початкова стадія плазмолізу не менше, ніж у 50% клітин досліджуваної тканини. Ізотонічний розчин матиме середнє значення між цим розчином і наступні!»! (меншої концентрації), в якому плазмоліз ще не відбувся.

Мета роботи: визначити осмотичний тиск клітинного соку рослин з великою кількістю антоціану.

Прилади та матеріали

Синя цибуля, традесканція, 1 М розчин NaCl або сахарози, дистильована вода, піпетки, пробірки в штативах, леза, препарувальні голки, мікроскопи, предметні стекла, покривні скельця, фільтрувальний папір.

Хід роботи

1. Приготувати по 5 мл розчинів NaCl або сахарози з концентрацією від 0,1 до 0,7 моль/л змішуванням відповідних об'ємів вихідного 1 М розчину і води згідно таблиці і помістити в пронумеровані пробірки.

2. Зробити 12 тонких зрізів епідерми цибулі або традесканції і перенести їх на 2-3 хв. у кип'ячену воду з $t = 10-15^{\circ}\text{C}$ для видалення бульбашок повітря. Слідкувати, щоб зрізи повністю були занурені у воду.

Таблиця 1.1.

Схема приготування розчинів NaCl і відповідні значення ізотонічного коефіцієнта

№ пробірки	Концентрація розчину, М	Ізотонічний коефіцієнт	Кількість на 5 мл розчину	
			1 М розчину NaCl	Води
1	0,1	1,87	0,5	4,5
2	0,2	1,83	1,0	4,0
3	0,3	1,78	1,5	3,5
4	0,4	1,75	2,0	3,0
5	0,5	1,70	2,5	2,5
6	0,6	1,68	3,0	2,0

3. Зафіксувати в таблиці час досліду з інтервалом у 5 хв. За допомогою препарувальної голки обсушити на фільтрувальному папері по 2 зрізи (для кожної пробірки) і на 20 хв. занурити їх у розчин від найвищої концентрації до нижчої.

4. Через 20-30 хв. досліджувані препарати розглянути під мікроскопом в краплині з тією концентрацією плазмолітика, в якій знаходився препарат.

5. Необхідно встановити, при якій концентрації плазмолітика починається плазмоліз, а при якій ні. Результати спостережень записати у таблицю (у графі "плазмоліз" + або -).

6. Якщо спостерігається плазмоліз, можна зробити висновок, що зовнішній розчин гіпертонічний, тобто має вищу концентрацію, ніж клітинний сік. Концентрація ізотонічного розчину рівна концентрації клітинного соку, гіпотонічного — нижча.

7. Визначивши ізотонічну концентрацію, вираховують осмотичний тиск клітинного соку за рівнянням Вант-Гоффа:

$$P = RTCi, \text{ де}$$

P — осмотичний тиск в мегапаскалях, МПа;

R — універсальна газова стала, 0,0083 кДж/Дград. моль); T - абсолютна температура $273^{\circ} + t^{\circ}$;

C — ізотонічна концентрація, моль/л;

i — ізотонічний коефіцієнт (для NaCl значення в таблиці, а для розчинів неелектролітів $i = 1$).

8. Результати досліджень занести в таблицю.

Таблиця 1.2.

Концентрація розчину	Ступінь плазмолізу	Тип розчину (гіпотонічний, ізотонічний, гіпертонічний,	Рисунок
0,6			
0,5			
0,4			
0,3			
0,2			
0,1			

Контрольні запитання

1. При якій концентрації плазмолітика помітно початкову стадію плазмолізу? Як визначити початок плазмолізу?
2. Склад клітинного соку клітини.
3. Чому розчини електролітів у порівнянні з неелектролітами мають більший осмотичний тиск?
4. Які фактори можуть впливати на проникність мембран?
5. Які розчини плазмолітиків Ви знаєте?
6. Чому під час тривалих дощів плоди абрикосу, сливи, вишні розтріскуються?

