

## Laboratorní cvičení č. 6

### 1. Makroskopická demonstrace plazmolýzy

#### Princip

Při makroskopické demonstraci plazmolýzy pozorujeme výdej vody pletivy, která jsou v kontaktu s plazmolytiky. V místě kontaktu poškozeného pletiva a plazmolyticky aktivní látky vznikne z buněčného obsahu porušených buněk a plazmolytika silně koncentrovaný (a tedy hypertonický) roztok, který působí na okolní neporušené buňky. Plazmolyzované buňky vydávají vodu, kterou můžeme pozorovat pouhým okem. Při kontaktu pletiva s plazmolyticky neaktivní látkou k výdeji vody nedochází.

#### Materiál a pomůcky

Kořen mrkve obecné (*Daucus carota*), sacharóza, kuchyňská sůl (chlorid sodný), škrob, nůž, Petriho miska.

#### Postup

Z kořene mrkve vyříznete tři špalíky, do každého z nich pak vydlabejte dutinu. Do dutin postupně nasypete sacharózu, sůl a škrob. Špalíky nechte na Petriho misce alespoň půl hodiny reagovat. Poté vyhodnoťte, ve kterých vzorcích došlo k vyloučení tekutiny a vysvětlete proč.

### 2. Důkaz závislosti polopropustnosti plazmatických membrán na vitalitě buněk

#### Princip

Pro život rostlinné buňky je nezbytná neporušená funkce jejího membránového systému. Nejdůležitějšími buněčnými membránami jsou cytoplazmatická membrána a membrána ohraničující vakuoly (tonoplast). Obě membrány jsou semipermeabilní a tato vlastnost je vázána na životnost buněk. Dokud je buňka živá, brání semipermeabilita membrán pronikání obsahu vakuol z buňky. Při ztrátě životnosti, a tím i semipermeability, dochází k uvolňování buněčného obsahu do okolního prostředí. Pokud buňky obsahují ve vakuolách barvivo, je tento jev pozorovatelný pouhým okem. Čím více je v pletivu mrtvých buněk, tím intenzivněji se zabarví okolní roztok.

#### Materiál a pomůcky

Kořen červené řepy (*Beta vulgaris* var. *rubra*), 30 % kyselina octová, 50 % etanol, destilovaná voda, kádinky, zkumavky, kahan, zápalky, nůž, pravítko, zkumavky, držák na zkumavky.

#### Postup

Z kořene řepy vykrájejte čtyři stejně velké kostky o hraně cca 10 mm. Kostky promyjte v kádince studenou vodou, aby se vymyl antokyan z pletiva poškozeného řezem. Do jednotlivých zkumavek nalijte vždy stejné množství studené destilované vody, horké destilované vody (ohřejte zkumavku s destilovanou vodou nad kahanem), kyseliny octové a

etanolu. Poté vzorky řepy umístěte do zkumavek s roztoky. Asi po 45 minutách stání vyhodnoťte zbarvení roztoků a vyvod'te, jaký vliv má daná kapalina na životnost buněk.

### 3. Stanovení acidity buněčné šťávy

#### Princip

V rostlinné buňce (v cytoplasmě i vakuolách) je obsaženo mnoho organických a anorganických látek, které mají vlastnosti elektrolytů. Přítomnost a disociace těchto látek na kationty a anionty určují kyselost neboli aciditu buněk. Aktuální aciditou se rozumí v daném okamžiku měření právě přítomná koncentrace vodíkových iontů (přesněji oxoniových iontů  $H_3O^+$ ). K vyjádření jejich koncentrace se používá záporného dekadického logaritmu číselné hodnoty koncentrace vodíkových iontů, označované symbolem pH.

Aciditu lze měřit různými fyzikálně chemickými metodami. K rychlému orientačnímu měření pH lze využít univerzální indikátorové papírky pro pH 0 - 12, předpokladem pro úspěšné měření je použití bezbarvých tekutin. Přesnější možnost měření nabízí digitální pH metr.

Hodnoty pH rostlinných buněk jsou charakteristické pro daný rostlinný druh a část rostliny, ale jsou závislé i na stáří buněk, fyziologickém stavu rostliny a podmínkách prostředí. Šťáva dužiny plodů má kyselou reakci, která je podmíněna přítomností organických kyselin. V plodech bývají nejčastěji přítomny kyseliny citronová, šťavelová, vinná, jablečná, octová a askorbová. Organické kyseliny jsou přítomny i ve zralých, poměrně sladkých plodech.

#### Materiál a pomůcky

Hlíza bramboru (*Solanum tuberosum*), okurka (*Cucumis sativus*), jablko (*Malus domestica*), ovocná šťáva (pomerančový džus), struhadlo, nůž, gáza, kádinky, Petriho misky, indikátorové pH papírky, digitální pH metr.

#### Postup

Připravte šťávu z rostlinného materiálu (materiál nastrouhejte, vymačkejte přes gázu do jednotlivých kádinek). Indikátorový papírek namočte na 1 vteřinu do šťávy, položte jej na bílou nenasákavou podložku (Petriho misku na bílém podkladu) a zbarvení proužku ihned porovnejte se stupnicí. Poté změřte aciditu připravených roztoků pH metrem.

Výsledky vložte do přehledné tabulky. V závěru proveďte dvě vyhodnocení:

- a) zhodnoťte kyselost zkoumaných vzorků
- b) porovnejte použité metody měření pH

### 4. Pozorování barevných změn antokyanů vlivem rozdílné acidity roztoku

#### Princip

Antokyaniny jsou ve vodě rozpustná barviva (patří mezi tzv. hydrochromy), která se nachází ve vakuolách některých rostlinných buněk. Jsou to heterocyklické sloučeniny, které vznikají oxidací bezbarvých chromogenů. V přírodě způsobují červené, modré nebo fialové zbarvení květů (zvonek, pomněnka, violka), plodů (borůvky, ostružiny, ptačí zob) nebo dalších částí

rostlin (červená řepa, červené zelí). Barevný odstín pigmentu je závislý na aciditě buněčné šťávy obsažené ve vakuolách. V kyselém prostředí jsou červené, v neutrálním fialové, v zásaditém modré, zelené až žluté.

#### Materiál a pomůcky

Kořen červené řepy (*Beta vulgaris* var. *rubra*), kyselina octová, amoniak, destilovaná voda, kádinka, kahan, zápalky, pipeta, zkumavky, stojan, struhadlo, nůž, indikátorové pH papírky, gáza.

#### Postup

Kořeny řepy nakrájejte na drobné kousky nebo nahrubo nastrouhejte. Přidejte destilovanou vodu (zhruba pětinasobek objemu rostlinného materiálu) a několik minut povařte. Vzniklý barevný extrakt přecedte přes gázu. Do devíti připravených zkumavek odměřte po 2 ml extraktu. Do zkumavek přidejte různá množství kyseliny nebo zásady (5, 10, 20 a 30 kapek), jednu zkumavku ponechte jako kontrolní. Destilovanou vodou dorovnejte roztoky ve zkumavkách na stejný objem. Sledujte vzniklou barevnou škálu, orientačně (pH papírkem) změřte pH jednotlivých roztoků. Výsledky zaznamenejte do přehledné tabulky.