

Laboratorní cvičení č. 8

1. Stanovení obsahu vody rostlinného pletiva – vyhodnocení

Viz návod ke cvičení č. 7.

2. Histochemický důkaz vápníku

Princip

Vápník patří mezi makroprvky, jeho obsah v sušině se v rostlinách pohybuje mezi 0,4 až 1,5 % v závislosti na druhu, orgánu a stáří rostliny. Je přijímán ve formě iontu Ca^{2+} aktivně kořeny pomocí elektrochemického gradientu přes biologické membrány.

Vápník má celou řadu důležitých funkcí především v metabolismu buněk. Ovlivňuje semipermeabilitu buněčných membrán a stabilizuje jejich strukturu. Má konformační a stabilizační vliv na bílkoviny. Je stavební látkou, ve formě pektátu zpevňuje buněčné stěny, podílí se na růstu buněk, které netvoří celulózní buněčné stěny (např. kořenové vlásky). Ovlivňuje stabilitu pletiv a aktivitu enzymů v rostlině.

Za jednu z hlavních funkcí vápníku v rostlinách je považována schopnost vázat některé organické kyseliny, zvláště kyselinu šťavelovou, a tím detoxikovat obsah buněk. Výsledná sloučenina – šťavelan vápenatý – se pak v buňkách vyskytuje v podobě krystalického písku, rafidů nebo drúz. Tyto krystaly jsou ve vodě nerozpustné. Po přidání kyseliny sírové dochází k rozpouštění krystalů šťavelanu vápenatého a následnému vzniku paprscitě uspořádaných jehlicovitých krystalů síranu vápenatého. Tuto reakci považujeme za důkaz přítomnosti vápníku v buňkách.

Materiál a pomůcky

Suché suknice cibule kuchyňské (*Allium cepa*) naložené minimálně 12 hodin v etanolu, stonek podeňky (*Tradescantia* sp.), zředěná kyselina sírová, preparační souprava, krycí a podložní sklíčka, filtrační papír, mikroskop.

Postup

Z malých kousků suknice cibule vytvořte nativní preparát, mikroskopujte. Pozorujte a zakreslete hranolovité krystaly šťavelanu vápenatého. Poté filtračním papírem odsajte z preparátu vodu a nahraďte ji kyselinou sírovou. Mikroskopem pozorujte rozpouštění krystalů šťavelanu vápenatého a tvorbu jehlicovitých, paprscitě uspořádaných krystalů síranu vápenatého.

Stonek podeňky odřízněte, smáčkněte prsty a vytékající šťávu zachyťte na podložní sklíčko. Podle potřeby přikápněte vodu, zakryjte krycím sklíčkem, mikroskopujte. Zakreslete tvary krystalů šťavelanu vápenatého.

3. Pozorování absorpční zóny kořene

Princip

Příjem živin kořenem se neděje po celé jeho délce. Pro příjem živin má rozhodující význam oblast kořene s kořenovým vlášením, kterou označujeme jako absorpční zónu. Kořenové vlásky mnohonásobně zvětšují velikost absorpční plochy. Jejich buňky jsou vysoce metabolicky aktivní, mají vysokou úroveň dýchání. Rozvoj kořenového vlášení závisí na fyziologickém stavu rostliny a je podmíněn i podmínkami prostředí. Kořenové vlásky jsou aktivní v transportu látek do kořene krátkou dobu, jejich odumírání je nahrazováno růstem vlásků nových.

Kořenové vlášení je dobře viditelné tzv. vitálním barvením. Při použití neutrální červeně se nejintenzivněji zbarví aktivně metabolizující buňky. Kromě kořenového vlášení intenzivně metabolizují také meristematická pletiva a buňky kořenové čepičky.

Materiál a pomůcky

Klíční rostliny obilovin (pšenice obecná – *Triticum aestivum*, ječmen setý – *Hordeum vulgare*), vodný roztok neutrální červeně (0,01 %), Petriho miska, podložní a krycí sklíčka, preparační souprava, mikroskop.

Postup

Z klíčnic rostlin odřízněte kořen takové délky, aby obsahoval kořenové vlášení. Manipulujte s kořenem opatrně, aby nedošlo k poškození kořenové čepičky. Umístěte na 15 minut do roztoku neutrální červeně. Krátce opláchněte vodou, vytvořte nativní preparát. V mikroskopu pozorujte, které buňky jsou nejvíce probarvené, zakreslete a popište.

4. Orientační stanovení obsahu dusičnanů v rostlinné šťávě

Princip

Dusík patří k základním makroprvkům, podílí na stavbě rostlinného těla. Koloběh dusíku v přírodě je realizován prostřednictvím dusičnanů (nitrátů, NO^3), dusitanů (nitritů, NO^2), amonných iontů (NH^4) a molekul dusíku (N_2), které jsou přirozenou složkou životního prostředí. Rozkladem dusíkatých organických sloučenin z odumřelých rostlin a živočichů vznikají v půdě amonné ionty, které jsou nitrifikačními bakteriemi oxidovány na dusitany a ty se dále oxidují na dusičnany. Denitrifikační bakterie naopak uvolňují z dusičnanů dusík, který se vrací zpět do atmosféry.

Rostliny dusík přijímají ve formě amonných a dusičnanových iontů. Dusičnany jsou v rostlinách redukovány na amonné soli potřebné pro syntézu aminokyselin a následně bílkovin. Za nepříznivých teplotních, vlhkostních a světelných podmínek, kdy v rostlinách není dostatek uhlíkatých sloučenin nezbytných pro syntézu dusíkatých sloučenin, dochází k akumulaci dusičnanů.

Z hlediska člověka je vysoký obsah dusičnanů ve stravě nežádoucí. Samotná přítomnost dusičnanů v potravě není nebezpečná, rychle se vylučují močí. Potenciální riziko spočívá v možnosti redukce dusičnanů na dusitany, které po vstřebání do krve oxidují Fe^{2+} v hemoglobinu na Fe^{3+} . Vznikající methemoglobin není schopen přenášet kyslík. Nebezpečný

je tento stav zvláště pro kojence, kteří nemají dostatečně vyvinutý enzymatický aparát pro redukci methemoglobinu zpět na hemoglobin. Dusitany mohou být také v lidském organismu zodpovědné za vznik některých karcinogenních sloučenin.

Vyšší obsah dusičnanů přepokládáme v zelenině hnojené (ať už průmyslovými nebo přírodními hnojivy) a rychlené.

Materiál a pomůcky

Různé druhy ovoce a zeleniny (bio, rychlené apod.), papírky pro stanovení obsahu dusičnanů a dusitanů, struhadlo, gáza, kádinky, Petriho misky, nůž.

Postup

Z vybraných druhů zeleniny a ovoce získejte šťávu (nastrouhejte a přefiltrujte přes gázu). Pomocí indikátorových papírků orientačně stanovte obsah dusičnanů (případně dusitanů). U listové zeleniny stačí papírek vsunout do čerstvého zářezu v řapíku. Zhodnoťte rozdíly mezi různými druhy zeleniny. Zdůvodněte.