

**СХІДНОЄВРОПЕЙСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ ЛЕСІ УКРАЇНКИ
КАФЕДРА БОТАНІКИ**

**ЛАБОРАТОРНИЙ ЖУРНАЛ
З ФІЗІОЛОГІЇ ТА БІОХІМІЇ РОСЛИН**

Студента(ки) _____ групи

Луцьк 2013

УДК 581.1(076.5)

ББК 28.573я 73-5+28.572я73-5

АБ28

Рекомендовано до друку методичною радою ВНУ імені Лесі Українки
(протокол № 1 від 04 вересня 2013 року)

Рецензент:

Кормош Ж.О. – кандидат хімічних наук, професор кафедри аналітичної хімії та екотехнології ВНУ імені Лесі Українки

Осип Ю.Л. – кандидат біологічних наук, доцент кафедри органічної та біоорганічної хімії ВНУ імені Лесі Українки

Машевська А.С., Єрмейчук Т.М. Фізіологія та біохімія рослин: Методичні вказівки до виконання лабораторних робіт (лабораторний журнал) для студентів III курсу заочної форми навчання спеціальності «Біологія» біологічного факультету. – Луцьк, 2013. – 38 с.

В методичних вказівках представлено лабораторні роботи, що висвітлюють основні розділи програми курсу «Фізіологія та біохімія рослин». Лабораторний журнал призначений для допомоги студентам III курсу біологічного факультету заочної форми навчання у підготовці та виконанні лабораторних робіт з курсу «Фізіологія та біохімія рослин».

ЗМІСТ

Лабораторна робота №1. Якісне визначення цукрів, жирів та білків у рослинному матеріалі.....	4
Лабораторна робота №2. Рослинна клітина як осмотична система. Явище плазмолізу і деплазмолізу.....	8
Лабораторна робота №3. Визначення всисної сили клітин спрощеним методом (за Уршпрунгом).....	12
Лабораторна робота №4. Будова та рухи продихів.....	15
Лабораторна робота №5. Фізичні та хімічні властивості хлорофілу.....	20
Лабораторна робота №6. Визначення інтенсивності дихання за кількістю виділеної вуглекислоти (за методом П. Бойсен-Ієнсена).....	24
Лабораторна робота №7. Вивчення активності каталази у рослинах.....	28
Лабораторна робота №8. Мікрохімічний аналіз попелу рослин.....	31
Для нотаток	37

Лабораторна робота №1

Тема: ЯКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ЦУКРІВ, ЖИРІВ ТА БІЛКІВ У РОСЛИННОМУ МАТЕРІАЛІ

Мета: Ознайомитись з деякими методами якісного визначення вуглеводів, білків і жирів. Оцінити вміст цих речовин у різних рослинних об'єктах.

Обладнання та матеріали: пробірки в штативах, хімічні склянки, колби, фарфорові ступки, скальпелі, предметні та покривні скельця, мікроскопи, лійки, колби, фільтрувальний папір, електроплитка, бульба картоплі, насіння злакових, бобових та олійних культур, плоди винограду, горохове і пшеничне борошно, 20%-ний розчин HCl, розчин судану III, 10%-ний розчин $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 10%-ний розчин NaOH, 1%-ний розчин CuSO_4 , розчин Фелінга.

У живому рослинному організмі внаслідок обміну речовин безперервно відбувається утворення, перетворення і розклад органічних речовин.

Вуглеводи – найбільш поширені органічні речовини у рослині. Загальна формула $\text{C}_n(\text{H}_2\text{O})_n$. Вуглеводи поділяються на прості і складні. Прості вуглеводи, або моноцукри (глюкоза, фруктоза, рибоза та ін.), не гідролізуються. Складні вуглеводи є ди-, три- і полісахаридами (сахароза, рафіноза, крохмаль, клітковина та ін.). Під час гідролізу вони розщеплюються на прості.

Основним запасним вуглеводом є крохмаль, який виявляється за допомогою йоду. У деяких рослин, як запасуючі, відкладаються розчинні цукри. Це редукуючі, тобто такі, що мають вільну альдегідну і кетонну групи цукри, у зв'язку з чим володіють відновною здатністю моно- і дисахариди, а також нередукуючі цукри (сахароза).

Ліпіди – велика група органічних речовин, до складу яких входять жири і ліпоїди. Ліпіди не розчиняються у воді, утворюючи з нею емульсії різної стійкості. Жири є сполуками триатомного спирту гліцерину і жирних кислот. Інтенсивне

утворення жирів відбувається під час утворення насіння і плодів. При проростанні насіння жири енергійно розщеплюються.

Білки – це азотовмісні високомолекулярні органічні сполуки, що мають пептидні зв'язки і під час гідролізу розщеплюються до амінокислот. У рослинах багато білка міститься у насінні, особливо бобових та олійних культур.

Хід роботи:

Завдання 1. Провести якісне визначення простих і складних вуглеводів у рослинних тканинах.

а) Виявлення крохмалю.

Зробити тонкі зрізи з насіння бобових, злакових і бульби картоплі. Помістити їх на предметне скло і змочити розчином J в KJ.

Яке забарвлення спостерігаємо? По інтенсивності забарвлення зробити висновок про кількісний вміст крохмалю у різних органах рослин.

б) Виявлення моноцукрів (глюкози, фруктози).

Наважку рослинного матеріалу (2-3г) подрібнити, покласти у пробірку, долити 10 мл води і кип'ятити протягом 5 хв. Після кип'ятіння витяжку профільтрувати і розлити у 2 пробірки. В першу пробірку до витяжки долити однаковий об'єм реактив у Фелінга і нагріти до кипіння. В другу пробірку до фільтрату додати 3-4 краплі 20%-ний HCl і прокип'ятити протягом 1 хв., щоб гідролізувати сахарозу. Пізніше кислоту в пробірці нейтралізувати содою, долити реактив Фелінга і знову нагріти до кипіння.

В обох пробірках відбувається відновлення оксиду міді (II) до оксиду міді (I) в результаті окиснення гексоз. Оксид міді (I) випадає у вигляді осаду червоного

кольору і його кількість свідчить про вміст редуруючих цукрів у досліджуваному матеріалі.

Вміст крохмалю оцінити за інтенсивністю забарвлення (синього), а редууючих цукрів – за кількістю утвореного осаду оксиду міді (1) за 4 – бальною шкалою.

Результати записати у таблицю:

Об'єкт	Вміст речовин у балах		
	Крохмаль	Редууючі цукри	
		до гідролізу	після гідролізу

Завдання 2. Провести якісне виявлення жирів у рослинному матеріалі.

Для цього зробити зрізи пророслої насінини кукурудзи і помістити його в краплину розчину судану III на предметне скло і витримати 10-20 хв. Потім зрізи перенести у гліцерин і розглянути під мікроскопом.

Яке забарвлення рослинного матеріалу спостерігаємо? Зробити висновок, в якій частині насінини (зародку, ендоспермі) наявні жири. Чому?

Завдання 3. Провести якісне виявлення білка у рослинному матеріалі (біуретова реакція).

Для цього 3 г горохової (пшеничної) муки висипати в колбу, долити 20 мл 10 %-ого розчину $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, закрити колбу корком і збовтувати протягом 3 хв.

Потім вміст колби профільтрувати. До одержаного фільтрату додати 5мл 10%-ого розчину NaOH, а потім 1-2 краплини 1%-ого розчину CuSO₄.

Які зміни відбуваються в результаті хімічної реакції у даному розчині? Чому?

Висновки :

Дати відповіді на питання:

1. На які основні групи поділяються вуглеводи і яке значення вони мають у житті рослин?

2. Що таке відновлюючі (редуючі) цукри? Які вуглеводи належать до цієї групи?

3. Яка хімічна природа рослинних жирів? Яке значення вони мають у житті рослин?

4. Яка хімічна природа білків та яка їх роль у рослинних організмах?

Лабораторна робота №2

Тема: РОСЛИННА КЛІТИНА ЯК ОСМОТИЧНА СИСТЕМА. ЯВИЩЕ ПЛАЗМОЛІЗУ І ДЕПЛАЗМОЛІЗУ

Мета: З'ясувати ознаки і причини процесів плазмолізу і деплазмолізу у рослинній клітині.

Обладнання та матеріали: цибулина синьої цибулі, 8%-ний розчин NaCl , препарувальна голка, мікроскоп, скальпелі, предметні і покривні скельця, скляні палички, хімічні склянки, фільтрувальний папір, електроплитка.

Пограничні мембрани цитоплазми (плазмалема і тонопласт) мають обмежену і вибіркову проникність. Зокрема, через них легко проходять молекули води. Ця властивість називається напівпроникністю, а рух води через напівпроникні мембрани, викликаний градієнтом концентрацій – осмосом. При зануренні клітин в гіпертонічні розчини плазмолітиків виникає осмотичний тиск води з клітин, об'єм вакуолі зменшується. Еластична цитоплазма скорочується вслід за вакуолею, клітинна оболонка втрачає напружений стан, але не скорочується, через це між нею і протопластом виникає простір, заповнений зовнішнім розчином. Такий стан клітини називається плазмолізом. При заміні

гіпертонічного розчину водою вона починає поступати у вакуоллю – проходить деплазмоліз клітини, вона починає повертатися у тургорний стан.

Хід роботи:

Завдання 1. Спостереження за неплазмолізованими клітинами епідермісу. Зробити зріз епідермісу луски цибулі, клітини якого містять антоціан. Помістити зріз в краплю води на предметне скло, накрити покривним і розглянути в мікроскоп. Замалювати клітини епідермісу в тургесцентному стані.

Завдання 2. Спостереження за явищем плазмолізу.

Замінити воду на 8%-ний розчин NaCl. Для цього нанести на предметне скло поряд з покривним велику краплю розчину, а воду відсмоктати фільтрувальним папером. Під мікроскопом розглянути мікропрепарат. Коли плазмоліз буде добре помітний, зробити схематичний малюнок клітин, у яких спостерігаються різні форми плазмолізу.

Завдання 3. Спостереження за явищем деплазмолізу.

Ввести під покривне скло мікропрепарату краплю води, відсмоктуючи розчин NaCl фільтрувальним папером. Під мікроскопом спостерігати за змінами, що проходять в клітинах. Зробити відповідний малюнок.

Завдання 4. Вплив термічної обробки на хід плазмолізу.

Епідерміс луски цибулини прокип'ятити у воді 2-3 хвилини. На предметне скло нанести краплю 8%-ного розчину NaCl і помістити в неї шкірку. Накрити покривним скельцем. Розглянути в мікроскоп і встановити, чи проходить плазмоліз.

Записати результати спостереження.

Зробити схематичні малюнки клітин у воді і після перебування у гіпертонічному розчині. Позначити основні складові частини клітин, показавши стрілками напрям руху води при деплазмолізі.

Висновки:

Дати відповіді на питання:

1. Чим заповнений простір між клітинною оболонкою і протопластом у плазмолізованих клітинах? Чому?

2. В чому полягає різниця між проникністю клітинної оболонки і мембран цитоплазми?

3. В чому подібність і відмінність між явищами вільної дифузії води та осмосом?

Лабораторна робота №3

Тема: ВИЗНАЧЕННЯ ВСИСНОЇ СИЛИ КЛІТИН СПРОЩЕНИМ МЕТОДОМ (ЗА УРШПРУНГОМ)

Мета: Визначити величину всисної сили клітин рослинного об'єкту. Встановити величину тургорного тиску клітин в залежності від ступеня їх оводненості.

Обладнання та матеріали: 1М розчин NaCl, дистильована вода, бульби картоплі, мірні пробірки (циліндри), лінійки, скальпелі, пінцети, пробірки в штативах, олівець по склу.

Поступання води в клітину визначається її всисною силою S , яка залежить від ступеня насичення клітини водою. В стані початкового плазмолізу всисна сила клітини дорівнює її осмотичному тиску ($P=0$; $S= \pi^*$). При зануренні клітин у воду тургорний тиск зростає і досягає максимальної величини, а всисна сила падає до нуля ($P= \pi^*$; $S=0$).

Визначення всисної сили клітин даним методом здійснюється шляхом підбору ізотонічного розчину, в якому не відбувається ні втрати, ні поглинання води клітинами. При зануренні шматка тканини у розчин різної концентрації змінюються їх розміри: в гіпертонічному розчині розміри зменшуються, в гіпотонічному – збільшуються. При зрівноваженні всисної сили клітин та розчину розміри клітин не змінюються.

Хід роботи:

Завдання 1. Виготовити розчини NaCl наступних концентрацій: 0,8М, 0,6М, 0,4М, 0,2М, 0, 1М об'ємом 10 мл кожний. Налити їх у 5 пробірок, у шосту 1,0 М розчин NaCl, а у сьому – воду. Вирізати з бульби картоплі пластинку і товщиною 3-4мм, а з неї прямокутник завширшки 20-30мм і завдовжки 30-70мм. Розрізати його вздовж на сім однакових смужок шириною 2-3мм, виміряти їх довжину з

точністю до 0,5мм і занурити одну у воду, а інші – у виготовлені розчини (занурення повинно бути повним). Виготовляти і вимірювати смужки потрібно швидко, не допускаючи в'янення матеріалу.

Завдання 2. Через 20-30хв. пінцетом вийняти смужки тканини з розчинів, просушити фільтрувальним папером і повторно виміряти їх довжину.

Записати результати в таблицю:

Концентрація NaCl, моль/л		1,0	0,8	0,6	0,4	0,2	0,1	0
Всисна сила розчину, МРа								
Довжина смужки, мм	Вихідна							
	Після перебування в розчині							
Різниця, мм								
Тургор								

У другій графі таблиці записати величину всисної сили розчинів, яка чисельно рівна їх осмотичному тиску, обчисленого за формулою Вант-Гоффа :

$$S = \pi^* = RTCi,$$

де π^* – осмотичний тиск, T – абсолютна температура ($273^\circ + tC^\circ$), C – Ізотонічна концентрація в молях, i – ізотонічний коефіцієнт, R – постійна газова стала, яка дорівнює – 0,0821 л. атм./град. моль.

Дані для 5-ї графі знайти як різницю більшої і меншої величини, причому збільшення довжини позначити знаком "+", а зменшення – знаком "-". В останній графі відмітити силу тургору тканини (сильний, середній, слабкий) чи його відсутність. Для визначення цього показника смужки розмістити на підставці так,

щоб вони наполовину звисали з її краю. Пояснити причини зміни розмірів смужок у розчинах різної концентрації і встановити, який із розчинів є ізотонічним.

Висновки:

Дати відповіді на питання:

1. В яку сторону зміниться довжина кусочка рослинної тканини при зануренні її в розчин з осмотичним тиском 1МПа, якщо відомо, що кусочок тієї ж тканини в розчині з осмотичним тиском 0,7МПа не змінив своїх розмірів?

2. Кусочки однієї і тієї ж рослинної тканини занурені в ряд розчинів з осмотичним тиском 0,3; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 МПа. Клітини цієї тканини перед зануренням в розчини мали тургорний тиск 0,5 МПа, а осмотичний тиск клітинного соку 1,5 МПа. В яких розчинах:

а) клітини будуть всмоктувати воду

б) клітини будуть віддавати воду

в) буде спостерігатись плазмоліз

3. В 6 пробірок налиті розчини NaCl з концентраціями: 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 1,0 М. В ці розчини помістили смужки вирізані з бульби картоплі, довжина яких до занурення становила 40 мм. Через 30 хв. довжина смужок виявилась рівною 42, 40, 38, 35, 35, 35 мм. Як пояснити одержані результати?

4. Чому довжина смужок виявилась однаковою в трьох останніх розчинах?

Лабораторна робота № 4

Тема: БУДОВА ТА РУХИ ПРОДИХІВ

Мета: Вивчити будову та гідроактивну реакцію продихів. Засвоїти один із простих методів визначення величин інтенсивності транспірації.

Обладнання та матеріали: листки традесканції, 5%-ний розчин гліцерину, пінцети, препарувальні голки, мікроскопи, предметні і покривні скельця, чашки Петрі, торсійні та технічні ваги, міліметровий папір, лінійки.

Транспірація – фізіологічний процес випаровування води рослиною, яка здійснюється через продихи, які складаються із двох замикаючих клітин та продихової щілини. Гідроактивна реакція полягає у залежності ступеня відкритості продихів від вмісту води у замикаючих клітинах: чим більше води, тим ширша продихова щілина. Для вивчення руху продихів у роботі використовується плазмолітик II роду гліцерин. В перший момент його гіпертонічний розчин викликає плазмоліз клітин. Якщо це замикаючі клітини продиху, то в результаті падіння тургорного тиску кривизна їх зменшиться і продихова щілина буде замикатись. По мірі проникнення плазмолітика в клітинні вакуолі і зниження градієнта концентрації між клітинним соком і зовнішнім розчином ступінь плазмолізу клітин зменшиться, об'єм їх збільшиться і відповідно стане відкриватись продихова щілина. Якщо замінити розчин плазмолітика водою, то швидко наступає максимальне розширення продихової щілини.

Інтенсивність транспірації – це кількість води, що випаровується за одиницю часу одиницею листової поверхні. Найбільш простий і досить точний метод обліку транспірації – метод швидкого зважування. Встановлене цим методом зменшення маси листків відповідає кількості випарованої води.

Хід роботи:

Завдання 1. Вивчити гідроактивну реакцію продихів.

Виготовити мікропрепарати нижнього епідермісу листків традесканції (свіжих і прив'ялих), помістити їх у краплину води. Знайти продихи, замалювати і описати їх стан.

Відсмоктати воду фільтрувальним папером і замінити її 5%-ним розчином гліцерину. Які рухи продихів спостерігаються? Чому? Які зміни відбуваються через 20 хв.?

Замінити гліцерин водою. Для цього з однієї сторони покривного скельця нанести краплину води, а з іншої відсмоктати гліцерин фільтрувальним папером. Описати, як зміниться стан продихів? Пояснити ці зміни.

Завдання 2. Визначити інтенсивність транспірації досліджуваних рослин.

Встановити торсійні ваги у вертикальному положенні (по рівню) і перевірити їх нульову точку. Зрізати листок з невеликим відрізком черешка, повільно покласти його на шальку, швидко зважити, записати час зрівноваження ваг та масу листка у таблицю. Через 3-4хв. Зробити повторне зважування, також відмітити час, записати масу листка. Якщо випаровування іде повільно, можна збільшити експозицію до 5хв. Визначити площу дослідного листка, з точністю до 1 мм², міліметровий папір.

Дані записати у таблицю:

№	Об'єкт	Час зважування		Експозиція, год.	Маса, мг		Випарувано води, мг	Площа, дм ²	Інтенсивність транспірації, мг/дм ² ·год.
		I-го	II-го		I-а	II-а			
1									
2									
3									
4									

Завдання 3. Інтенсивність транспірації I_T (мг/дм²·год) обчислити за формулою:

$$I_m = \frac{m}{S \cdot t}$$

де: m – кількість випаруваної води, мг;

S – площа листкової пластинки, дм²;

t – час експозиції, год.

Одержані величини інтенсивності транспірації записати у таблицю.

Висновки:

Дайте відповіді на питання:

1. Які особливості будови замикаючих клітин продику визначають зміну просвіту продигової щілини при зміні величини тургорного тиску цих клітин?

2. Скільки води випарує рослина за 15хв., якщо інтенсивність транспірації $150\text{г}/\text{м}^2\text{год.}$, а площа листків 270 см^2 ?

3. Які фізіологічні процеси, що приводять до зміни тургорного тиску, відбуваються в замикаючих клітинах продохів під дією світла?

4. Пагін, зважений після зрізання, має масу $15,37\text{г}$, а через 3 хв. – $15,28\text{г}$. Площа листків пагона дорівнює 320 см^2 . Визначити інтенсивність транспірації.

5. Пагін з площею листків 1200см^2 за 3хв. випарував $0,06\text{г}$ води. За тих же умов з вільної водної поверхні площею $0,3\text{дм}^2$ за 3 год. випарувалось $1,125\text{г}$. Визначити відносну транспірацію.

Лабораторна робота № 5

Тема: ФІЗИЧНІ ТА ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ХЛОРОФІЛУ

Мета: Ознайомитися з деякими фізичними та хімічними властивостями хлорофілу, які зумовлені особливостями будови його молекули.

Обладнання і матеріали: рослинний матеріал, спирт, бензин, ацетон, 20%-ний розчин NaOH, 20%-ний розчин HCl, пробірки в штативах, фарфорові ступки з товкачками, вага, фільтрувальний папір, лійки, мірні пробірки, електроплитка.

Наявність у молекулі хлорофілу великої кількості активних хімічних груп зумовлює його значну реакційну здатність. При обробці хлорофілу лугом ефірні зв'язки омилуються, в результаті чого від його молекули відщеплюються спирти фітол і метанол та утворюється лужна сіль хлорофілінової кислоти, яка зберігає зелене забарвлення.

Наявність у порфіриновому ядрі кон'югованої системи десяти подвійних зв'язків і магнію зумовлюють характерний для хлорофілу зелений колір. При дії кислот іон магнію заміщується двома протонами, при цьому утворюється сполука феофітин, яка має бурий колір. Якщо на феофітин подіяти солями міді, то замість двох протонів в ядро входить метал, зворотньо відновлюється металоорганічний зв'язок і знову з'являється зелене забарвлення.

Хлорофіл має здатність до флюоресценції. Це свічення речовин під час поглинання світла. Світло, що при цьому випромінюється, завжди має більшу довжину хвилі в порівнянні з поглинутим. Для хлорофілу характерна червона флюоресценція.

Хід роботи:

Завдання 1. Вивчити фізичні властивості хлорофілу – розчинність у різних розчинниках та здатність до флюоресценції.

Для цього розтерти 0,5г зелених листків у фарфоровій ступці в 5мл води, настояти 5хв. і профільтрувати. Отримати так само спиртову, бензинову та ацетонову витяжки. Порівняти колір витяжок і зробити висновок про ступінь розчинності хлорофілу у різних розчинниках.

Спиртову витяжку хлорофілу настояти на яскравому світлі 10-15хв. Розглянути витяжку на світлі і відмітити забарвлення. Як зміниться колір витяжки при розгляданні її на темному фоні? Пояснити.

Завдання 2. Вивчити хімічні властивості хлорофілу – взаємодію з кислотами і лугами та здатність до окисно-відновних реакцій.

До 2 мл спиртової витяжки хлорофілу додати 4 краплини 20%-ного розчину HCl , перемішати. Як і чому змінився колір?

Записати рівняння реакції:

До 2 мл одержаного у попередньому завданні розчину додати кілька кристаликів оцтовокислої міді і нагріти. Які зміни відбулись? Чому?

Записати рівняння реакції:

До спиртової витяжки пігментів додати 1 мл 20%-ного розчину лугу, нагріти до кипіння. Які зміни спостерігаються? Записати рівняння хімічної реакції:

До охолодженого розчину долити рівну за об'ємом кількість бензину, 2-3мл води і перемішати. Утворюються два шари – в одному жовті пігменти, в другому лужна сіль хлорофілінової кислоти і вільні спирти – метиловий і фітол. Зробити малюнок, що характеризує процес розділення пігментів.

Висновки:

Дати відповіді на питання:

1. Як пояснити, що довжина хвилі променів флюоресценції більша довжини хвилі червоних променів, що поглинаються хлорофілом?

2. За допомогою якої реакції можна довести, що хлорофіл є складним ефіром?

3. За допомогою якої реакції можна довести, що в молекулі хлорофілу міститься атом магнію?

4. До розчину феофітину добавили кілька кристаликів оцтової кислоти міді і нагріли до кипіння. Як зміниться при цьому забарвлення розчину? Чому?

5. Експериментально встановлено, що інтенсивність флюоресценції у хлорофілу в розчині в 10 разів вища, ніж в нативному стані (в живій пластиді). Чим це можна пояснити?

Лабораторна робота № 6

Тема: ВИЗНАЧЕННЯ ІНТЕНСИВНОСТІ ДИХАННЯ ЗА КІЛЬКІСТЮ ВИДІЛЕНОЇ ВУГЛЕКИСЛОТИ (ЗА МЕТОДОМ П. БОЙСЕН-ІЄНСЕНА)

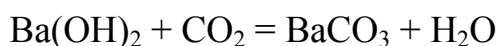
Мета: Оволодіти методикою визначення інтенсивності дихання за кількістю CO_2 , що виділяє рослина в процесі дихання.

Обладнання і матеріали: скляні колби, гумові корки, марлеві мішечки, бюретки, 0,1 н розчин $\text{Ba}(\text{OH})_2$, 0,1н розчин HCl , фенолфталеїн, сухе і проросле насіння, ваги з різноважками, ножиці.

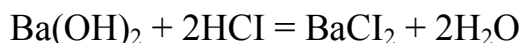
Інтенсивність дихання можна визначити: 1) по кількості виділеної вуглекислоти; 2) по кількості поглинутого кисню; 3) по витраті сухої речовини. Всі ці показники розраховуються на одиницю маси за одиницю часу. При диханні рослина поглинає O_2 та виділяє CO_2 .

До кількісних методів визначення дихання у рослин належить метод П. Бойсен-Ієнсена. За цим методом визначають інтенсивність дихання за кількістю виділеної вуглекислоти, що виділяється в процесі дихання одиницею маси рослини за одиницю часу. В дослідженнях необхідно встановити, яке насіння буде дихати інтенсивніше: сухе, вологе чи проросле.

У дві колби, дослідну (з рослинним матеріалом) і контрольну, наливають певну кількість $\text{Ba}(\text{OH})_2$, який здатний реагувати з CO_2 повітря. При диханні досліджуваного об'єкту виділений діоксид вуглецю реагує з лугом. При цьому концентрація розчину значно зменшиться:



Через певний час луг, що залишився в колбі, титрують соляною кислотою:



За різницею титрування бариту контрольної і дослідної колб, прямо пропорційній кількості виділеного при диханні CO_2 . Для визначення інтенсивності дихання за методом П. Бойсен-Ієнсена в якості об'єктів досліджень можна використовувати не лише насіння зернових культур, а й різні органи рослин – пагони, листки, квітки.

Хід роботи:

Завдання 1. Поставити дослід для визначення кількості CO_2 , поглинутого рослинним матеріалом:

а) У чотири колби однакового об'єму налити по 20 мл 0,1н розчин $\text{Ba}(\text{OH})_2$ і закрити гумовими корками. Одна колба служить контролем для врахування CO_2 , що міститься в її об'ємі;

б) Зробити наважку рослинного матеріалу (по 5г сухою, вологого і пророслого насіння одно- і дводольних рослин), висипати їх у марлеві мішечки і на нитці підвісити у дослідні колбі (мішечок повинен легко проходити крізь горло

колби і не торкатись розчину). Колби (дослідну і контрольну) поставити в однакові умови на 0,5 год.

Завдання 2. Зняти результати досліду.

Для цього насіння з дослідної і контрольної колб вийняти, до залишку бариту додати по дві краплини фенолфталеїну і відтитрувати 0,1н розчином НСІ до зникнення рожевого забарвлення.

Результати досліду записати у таблицю:

Об'єкт	Маса проби, г	Тривалість досліду, (год.)	Затрачено на титрування 0,1 н р-ну НСІ (мл)		Поправка до титру НСІ	Іггесивність дихання, мг/г·год.
			Дослід	Контроль		

Завдання 3. Обчислити інтенсивність дихання за формулою:

$$I = \frac{(a - b) \cdot 2,2}{t \cdot n}$$

де I – інтенсивність дихання, мг/г · год.;

a – кількість 0,1н розчину НСІ, затраченої на титрування контролю, мл;

b – кількість 0,1н розчину НСІ, витраченої на титрування досліду, мл;

2,2 – поправка до титру (кількість CO₂, еквівалентна 1мл 0,1н розчину НСІ);

t – тривалість досліду, год.;

n – наважка рослинного матеріалу, г;

Порівняти інтенсивність дихання досліджуваних об'єктів (сухого та пророслого насіння).

Висновки:

Дати відповіді на питання та розв'язати задачі:

1. Які зовнішні і внутрішні чинники впливають на інтенсивність дихальної функції?

2. В дві колби налито однакову кількість розчину $\text{Ba}(\text{OH})_2$. Колби тісно закриті корками з крючками, до яких підвішені марлеві мішечки з однаковими наважками пророслого і непророслого насіння. Через певний час розчин в колбах протитрували соляною кислотою. На титрування якої колби піде більше кислоти? Чому?

3. Були взяті дві наважки насіння по 10 г кожна. Одну наважку висушили при 100°C для визначення абсолютно сухої маси, яка виявилась рівною 8,8 г. Другу порцію насіння пророщували протягом двох тижнів в темряві на чистому піску, змоченому дистильованою водою. Одержані проростки мали сирю масу 21,7 г, а абсолютно суху – 7,0 г. Як пояснити зміну сирі і сухої маси у процесі проростання?

4. 10 г бруньок виділили за 20 хв. 2 мг CO₂. Визначити інтенсивність дихання на 1 г сухої маси за 1 год., якщо відомо, що вміст води в бруньках становить 60%.

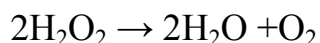
Лабораторна робота №7

Тема: ВИВЧЕННЯ АКТИВНОСТІ КАТАЛАЗИ У РОСЛИН

Мета: Ознайомитись із діяльністю каталази у рослинному матеріалі візуальним методом та методом кількісного аналізу.

Обладнання і матеріали: мікроскопи, предметні та покривні скельця, 1%-ний розчин і 3%-ний розчин H₂O₂, фарфорові ступки з товчачиками, бюретки, лійки, фільтрувальний папір, 10% р-н H₂SO₄, 0,1н р-н КМпО₄, досліджувані рослини, ваги, різноважки, пробірки в штативах.

Каталаза належить до класу оксидоредуктаз і розщеплює перексид водню на воду і молекулярний кисень:



Завдяки цьому ферменту з рослинного організму виводиться дуже отруйна сполука – перексид водню. Досить вагомою є роль каталази в постачанні молекул киснем тих рослинних тканин, куди його доступ є утрудненим.

За допомогою кількісного аналізу можна визначити кількість цього важливого ферменту в різних рослинних об'єктах.

Хід роботи:

Завдання 1. Визначити активність каталази в сухому і проростаю чому насінні злакових культур.

Для цього у дві пробірки налити 3%-ний розчин H_2O_2 . В одну з них помістити 5-10 сухих насінин пшениці, в другу – 5-10 пророслих насінин.

За інтенсивністю виділення пухирців O_2 встановити інтенсивність каталази удвох варіантах. Дати пояснення одержаним результатам.

Завдання 2. Провести кількісне визначення каталази в рослинному матеріалі. Для цього:

а). 2-3 г свіжого рослинного матеріалу розтерти у фарфоровій ступці із 0,3 г $CaCO_3$. Долити 10 мл води і ретельно розтерти до однорідної маси. Розтерту масу перенести у хімічну склянку місткістю 50 мл і довести до заданого об'єму водою;

б) витяжку відстояти 30-40 хв., після чого профільтрувати;

в) у дві склянки налити по 10 мл фільтрату. Вміст однієї склянки кип'ятити 2-3 хв. для інактивації ферменту (контроль). Після охолодження в обидві і склянки долити по 10 мл води і по 15 мл 1%-ного розчину H_2O_2 . Суміш перемішати та інкубувати 20-30 хв.;

г) після інкубації в обидві склянки додати по 2-3 мл 10%-ного розчину H_2SO_4 і титрувати 0,1н розчином $KMnO_4$ до слабо-рожевого забарвлення, яке не зникає протягом 1 хвилини. За різницею між титруванням контролю і досліду

визначити кількість переоксиду водню, який розклався під час інкубації в перерахунку на 1 г наважки за формулою:

$$X = \frac{(a - b) \cdot t}{n}$$

де: X – активність каталази;

a – кількість 0,1 н розчину KMnO_4 , яку витрачено на титрування контрольної колби, мл;

b – кількість 0,1 н розчину KMnO_4 , яку витрачено на титрування дослідної колби, мл;

t – поправка до титру, яка дорівнює 1,7 (кількість мг H_2O_2 , яка відповідає 1 мл 0,1 н розчину KMnO_4 ;

n – наважка рослинного матеріалу, г.

Одержані результати:

$a =$ _____

$b =$ _____

$n =$ _____

$X =$ _____

Висновки:

Дати відповіді на питання:

1. Яка фізіологічна роль каталази?

2. До якого класу належить фермент каталаза? Яка її хімічна природа?

Як продемонструвати дію каталази на розщеплення перексиду водню в клітинах?

Лабораторна робота № 8

Тема: МІКРОХІМІЧНИЙ АНАЛІЗ ПОПЕЛУ РОСЛИН

Мета: За допомогою якісних хімічних реакцій зробити аналіз попелу рослин і встановити його мікрохімічний склад.

Обладнання і матеріали: попіл з рослинного матеріалу, 10%-ний р-н NH_3 , 10%-ний р-н HCl , 10%-ний р-н AgNO_3 , 1%-ний р-н H_2SO_4 , 1%-ний р-н Na_2HPO_4 , 1%-ний р-н $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$, 1%-ний р-н HNO_3 , 1%-ний р-н $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$, пробірки, лійки, фільтрувальний папір, скляні палички, предметні скельця, мікроскопи.

Для мікрохімічного методу потрібна невелика кількість матеріалу (попелу).

Попіл, що одержують при спалюванні рослин, містить не велику кількість елементів, серед яких розрізняють макро- і мікроелементи.

Вміст зольних елементів в рослинах коливається у широких межах, в залежності від виду та органу і в середньому становить 3-15%. Склад попелу різноманітний. Майже немає елементів, які не були б виявлені у попелі тієї чи

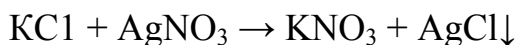
іншої рослини. В залежності від кількісного вмісту окремих елементів їх поділяють на групи: макроелементи (вміст до 0,01%), мікроелементи (вміст від 0,01 до 0,00001%) і ультрамікроелементи (менше 0,00001%).

Хід роботи:

Завдання 1. Виготовити водну і кислотну витяжки попелу. Для цього у дві пробірки насипати попелу і залити в першій пробірці водою, у другій – 10% розчином HCl (об'єм попелу повинен бути в 4 рази меншим об'єму розчинника). Добре розмішати скляною паличкою та відставити на 5-7 хвилин.

Профільтрувати одержані розчини у чисті пробірки.

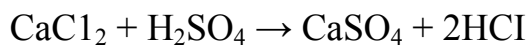
Завдання 2. Виявити у водному розчині попелу хлориди. Реактивом служить 10%-ний р-н AgNO₃ (дослід проводиться у пробірці). При наявності хлоридів утворюється білий осад AgCl.



Іони Cl⁻ у витяжці _____

Завдання 3. Виявити у кислотному розчині попелу такі елементи: кальцій, магній, фосфор, залізо. Провести на предметних скельцях реакції на Ca, Mg і P. Для цього за допомогою скляної палички нанести на предметне скло малу краплю витяжки і на віддалі 4-5 мм від неї – краплю відповідного реактиву. Потім кінцем палички з'єднати краплі каналом та підсушити. У місці з'єднання пройде реакція, причому по краях каналу буде спостерігатись швидка кристалізація продуктів реакції. Розглянути кристали, що утворюються, в мікроскоп і замалювати їх.

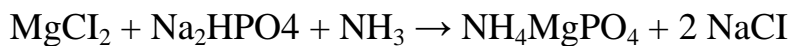
а) Реактивом на іон кальцію служить 1 %-ний розчин H_2SO_4



При наявності кальцію утворюється гіпс, що осаджується у вигляді голчастих кристалів. Іони Ca^{2+} у витяжці _____

Малюнок кристалів

б) Для виявлення магнію краплину кислотної витяжки попелу нейтралізувати водним розчином аміаку (NH_3) і з'єднати каналом з 1 %-ним розчином (Na_2HPO_4).



При наявності магнію утворюється фосфорноаміачномагнезіальна сіль, яка кристалізується у вигляді прямокутників, квадратів, зірочок. Іони Mg^{2+} у витяжці _____

Малюнок кристалів

в) Для виявлення фосфору з'єднати краплину витяжки з 1%-ним розчином $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$ в азотній кислоті.

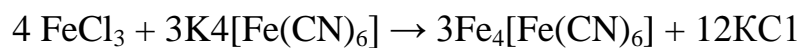


При наявності фосфору в результаті реакції утворюється зеленувато-жовтий осад фосфорномолібденового амонію з кристалами круглої, овальної, квадратної та ромбічної форм.

Іони PO_4^{3-} _____

Малюнок кристалів

г) Залізо виявляється з допомогою розчину жовтої кров'яної солі (дослід провести у пробірці).



При наявності заліза в результаті реакції утворюється берлінська лазур синього кольору.

Іони Fe^{3+} _____

Висновок:

Дати відповіді на питання:

1. Деякі мінеральні речовини вважаються основними, так вони являють складову частину головних органічних молекул у рослині. Назвіть 2 важливі органічні молекули, до складу яких входять:

а) азот; б) фосфор; в) сірка. Яку функцію виконують інші основні елементи, які не входять в структуру органічних молекул?

2. Нестача заліза в ґрунті викликає хлороз тканини між жилками молодих листків, тоді як нестача азоту обумовлює загальне пожовтіння старих листків. Чому нестача заліза і азоту впливає на тканини різного віку?

3. Який елемент, що входить до складу каталітичних центрів багатьох окисно-відновних ферментів (цитохромів, каталази, пероксидази), необхідний для утворення попередників хлорофілу?

ДЛЯ ПОДАТОК

Навчально-методичне видання

**Машевська Алла Степанівна
Єрмейчук Тамара Музаффарівна**

Фізіологія та біохімія рослин

Методичні вказівки до виконання лабораторних робіт (лабораторний журнал) для студентів III курсу заочної форми навчання спеціальності «Біологія» біологічного факультету