

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ВОЛОГОДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

Кафедра химии

БИОЛОГИЯ

Методические указания к лабораторному практикуму

Факультет экологии

Направление подготовки: 05.03.06 – «Экология и природопользование»

ВОЛОГДА
2016

Биология: методические указания к лабораторному практикуму / сост. Г.А. Тихановская, Ю.В. Машихина. – Вологда: ВоГУ, 2016. – 20 с.

Методические указания к лабораторному практикуму составлены в соответствии с программой курса «Биология» для студентов направления бакалавриата 05.03.06 – «Экология и природопользование». В каждой лабораторной работе дается краткое теоретическое обоснование, методика проведения эксперимента, требования к оформлению отчета.

Утверждено редакционно-издательским советом ВоГУ

Составители: Г.А. Тихановская, канд. биол. наук, доцент,
Ю.В. Машихина, зав. лаб. аналитической химии, ассистент

Рецензент: Л.Г. Рувинова, д-р биол. наук, профессор кафедры
геоэкологии и инженерной геологии

ПРЕДИСЛОВИЕ

Лабораторные занятия по курсу: "Биология" являются одним из важнейших звеньев процесса изучения этой дисциплины. Здесь студенты получают навыки экспериментальной работы, овладевают умением обращаться с микроскопами, знакомятся с техникой приготовления микропрепаратов.

Более глубокому и полному усвоению теоретического материала способствуют самостоятельные выводы из полученных опытных данных.

Предлагаемые методические указания составлены в соответствии с программой курса "Биологии" для студентов направления бакалавриата 05.03.06 – «Экология и природопользование».

Методические указания содержат десять лабораторных работ по темам: "Фотосинтез", "Дыхание растений", "Превращение органических веществ", "Минеральное питание растений", "Водный режим растений".

Для выполнения каждой лабораторной работы необходимо:

1. Ознакомиться по рекомендуемому учебнику с тем разделом биологии, к которому относится данная работа:
2. Внимательно прочитать и понять содержание теоретического введения к выполняемой работе, в котором рассматриваются основные закономерности изучаемых биохимических процессов и явлений.
3. Ознакомиться со схемой и описанием прибора, порядком составления отчета.
4. Выполнить опыт.
5. Составить отчет о работе по соответствующей форме.

ВВЕДЕНИЕ

Биология (от греч. "биос" – жизнь и "логос" – слово) – это наука о живых системах. Живое отличается необычайным разнообразием, оно представлено множеством видов живых существ. На Земле известно более 3000 видов прокариот (бактерии и сине-зеленые водоросли), более 450 000 видов растений и более 1,2 млн. видов животных.

Выявление и объяснение общего, одинаково верного для всего многообразия организмов – *задача общей биологии*.

К признакам *живых систем* относится их типичный химический состав, для которого характерно присутствие *нуклеиновых кислот* и *белков*. В организме макромолекулы постоянно синтезируются заново и распадаются. Такого рода *обмен веществ* делает необходимыми механизмы реакций с использованием внешних источников энергии (либо богатых энергией веществ – пищи, либо света), поскольку процессы синтеза требуют расхода энергии. Поэтому живые системы – это *открытые системы*.

Структурная сложность живого начинается с макромолекулы, продолжается на уровне таких структур, как мембраны и органеллы, а далее клетки; у многоклеточных организмов – ткани, органы, системы органов, вплоть до

целых организмов (особей). На надорганизменном уровне она приводит к образованию сложных сообществ организмов – биocenозов.

Процессы обмена веществ регулируются с помощью особого *биологического катализа*. Катализаторами служат белки.

Для сохранения живой системы важно, чтобы в процессе ее метаболизма синтезировались не любые макромолекулы, а все время одни и те же. Это возможно благодаря *матрицам*, которые состоят из нуклеиновой кислоты (ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота). Таким образом, матрицы служат для *воспроизведения* системы. Сама матрица в отличие от всех других молекул обладает способностью к идентичному самоудвоению (репликации) и тем обеспечивает способность к *самовоспроизведению* всей живой системы. Преобладание синтеза молекул над их распадом приводит к росту, а когда части организма отделяются от него – к *размножению*, т.к. матрица реплицируется *идентично*. Размножение связано с *наследованием* специфических для системы признаков.

У сложных (многоклеточных) организмов отделяющиеся при размножении части, как правило, малы. Изменяясь в процессе индивидуального *развития*, они превращаются в новые, полностью сформированные системы того же типа.

Для поддержания неизменности живых систем в меняющихся условиях внешней среды, необходимо внутреннее *регулирование* различных процессов, которое приводит к взаимной подстройке этих процессов и их подчинению единому порядку.

Использование принципа *обратной связи* позволило создать системы для поддержания параметров внутренней среды (*гомеостаза*). Во всякой живой клетке такие системы построены на химической основе. В животном организме – на нервной основе, а в сообществах организмов – на основе многообразных внутривидовых и межвидовых взаимодействий. Все эти системы способны к *саморегуляции* и являются самоорганизующимися системами высокой функциональной сложности.

Для жизни необходимо способствующее сохранению системы реагирование на воздействие окружающей среды. Поэтому к признакам живых систем относятся *способность отвечать на раздражение* (раздражимость) и способность к движению. Приспособляемость к внешней среде в больших масштабах времени основана на *наследственной изменчивости* организмов. Случайные ошибки при репликации матрицы делают возможным *отбор*, которому подвергаются измененные системы. Отбор – это оптимизирующее влияние внешней среды, который привел к образованию бесчисленных видов организмов из одного – единственного типа доисторической живой системы; это – фактор *позитивной эволюции* организмов.

Происхождение всех земных существ *от общего корня* подтверждается далеко идущими совпадениями в их фундаментальных особенностях: строение нуклеиновых кислот, строение клешни, общность путей метаболизма, единство генетического кода.

Живые системы резко отличаются от объектов физики – неживых систем. Это отличие состоит не в каких-то неуловимых метафизических свойствах живых организмов (все законы физики для живых и неживых систем верны), а в их высокой *структурной и функциональной сложности*. Живые системы представляют собой особую ступень *развития материи*.

Таким образом, ***живыми называются такие системы, которые обладают нуклеиновыми кислотами и белками и способны сами синтезировать эти вещества***. Это определение неприменимо к древнейшим ступеням возникновения жизни, в также к существующим, возможно, внеземным живым системам, которые могут быть устроены иначе.

Другое определение основано на способности живых систем к *разделению энтропии*. В результате их жизнедеятельности в окружающей среде прирост энтропии оказывается больше, чем ее уменьшение внутри самого организма. Живые существа – не изолированные, а открытые системы. Это позволяет сформулировать определение живого следующим образом: ***живыми называются такие системы, которые способны самостоятельно поддерживать и увеличивать свою очень высокую степень упорядоченности в среде с меньшей степенью упорядоченности***.

Т е м а № 1. ХИМИЧЕСКАЯ ОСНОВА ЖИЗНИ

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 1

КАЧЕСТВЕННАЯ РЕАКЦИЯ НА БЕЛКИ И ПРОДУКТЫ ИХ ГИДРОЛИЗА

БЕЛКИ

Белки – высокомолекулярные органические соединения. В состав белков входят: углерод – 50-54%, кислород – 21-23%, азот – 15-17%, водород – 6-7%, сера – 0,3-2,5%; фосфор – 0,5-0,6%.

Все белковые вещества разделяются на 2 группы: простые (протеины), сложные (протеиды).

Простые белки при гидролизе распадаются только на аминокислоты.

В состав сложных белков, кроме аминокислот, входят вещества небелковой природы. Качественные реакции на белки можно разделить на 2 группы: цветные реакции, реакции осаждения.

ОПЫТ 1. Биуретовая реакция (реакция Пиотровского)

В щелочной среде белки, а также продукты их гидролиза – полипептиды, дают фиолетовое или красно-фиолетовое окрашивание с солями меди.

В пробирку налить 2 мл раствора яичного белка и прибавить равный объем раствора NaOH и 1-2 капли раствора сернокислой меди. Появляется красно-фиолетовое или сине-фиолетовое окрашивание.

ОПЫТ 2. Нингидриновая реакция

Белки, полипептиды и аминокислоты образуют с нингидрином соединения синего или сине-фиолетового цвета (при нагревании).

В пробирку наливают 1-2 мл раствора аминокислоты (глицерин или др.), добавляют 10-12 капель раствора нингидрина, нагревают около минуты, появляется фиолетово-синее или фиолетовое окрашивание (оттенок зависит от вида аминокислоты). Если этот опыт проводится с растворами белков, время нагревания необходимо увеличить (окраска красно-фиолетовая).

ОПЫТ 3. Ксантопротеиновая реакция

Характерна для некоторых ароматических аминокислот (фенилаланина, тирозина, триптофана и др.).

К 2-3 мл раствора фенола осторожно (по стенке пробирки) приливают 1-2 мл концентрированной азотной кислоты. Осторожно нагревают, получается желтое окрашивание.

В случае анализа раствора белка, в пробирку с 2 мл раствора белка прибавляют 8-10 капель концентрированной азотной кислоты и осторожно нагревают. Выпадает осадок, который окрашивается в желтый цвет. После охлаждения в пробирку осторожно (по стенке) приливают избыток концентрированного раствора аммиака или NaOH. Жидкость принимает оранжевое или желто-оранжевое окрашивание.

ЗАДАНИЕ: Получить у преподавателя растворы для анализа. Провести с каждым указанные реакции. Результаты опыта занести в таблицу 1, применяя следующее обозначения: "+" – результат положительный (вещество присутствует), "-" – результат отрицательный (вещество отсутствует), "К" – контрольная проба, "Н" – не выполняется.

Таблица 1

№ пробирки	Вещество	Биуретовая реакция	Нингидриновая реакция	Ксантопротеиновая реакция
1	Р-р яичного белка	К +		
2	Р-р аминокислоты		К +	Н
3	Р-р фенола	Н	Н	К +
4	и т.д.			

УГЛЕВОДЫ

Углеводы классифицируют по их способности к гидролизу. Углеводы делятся на 3 группы: моносахариды (монозы), олигосахариды (состоят из 2-10 остатков моноз), высшие или коллоидные полисахариды (не кристаллизующиеся и не дающие истинных растворов высокомолекулярные соединения).

КАЧЕСТВЕННЫЕ РЕАКЦИИ НА МОНОСАХАРИДЫ

ОПЫТ 4. Реакция с α -нафтолом

В пробирку наливают 2 мл раствора глюкозы, добавляют 3-4 капли раствора α -нафтола и встряхивают, после чего осторожно наслаивают 1-2 мл концентрированной серной кислоты. Жидкость в пробирке приобретает фиолетово-красное окрашивание, более выраженное на границе слоев.

ОПЫТ 5. Реакция с реактивом Фелинга

К 3-4 мл раствора глюкозы (или фруктозы) добавляют равный объем реактива Фелинга и нагревают до начала кипения. Выпадает красный осадок закиси меди.

РЕАКЦИЯ НА ДИСАХАРИДЫ

ОПЫТ 6. Реакция сахарозы с солями кобальта

Сахароза в щелочной среде дает фиолетовое окрашивание с ионами кобальта.

К 2 мл раствора сахарозы добавляют 1 мл раствора щелочи и несколько капель раствора соли кобальта. Появляется фиолетовое окрашивание.

РЕАКЦИЯ НА ВЫСШИЕ ПОЛИСАХАРИДЫ

Крахмал является первым видимым продуктом фотосинтеза. В клетках растений находится в виде зёрен.

ОПЫТ 7. Реакция на крахмал с йодом

В пробирку наливают 1-2 мл раствора крахмала и добавляют 1-2 капли раствора Люголя. Появляется насыщенное синее окрашивание. При нагревании синяя окраска исчезает, при охлаждении – восстанавливается.

ЗАДАНИЕ: Получить у преподавателя исследуемые растворы, провести с каждым указанные реакции, результаты занести в таблицу 2.

Таблица 2

№ пробирки	Вещество	Реакция с α -нафтолом	Реакция сахарозы с солями кобальта	Реакция с реактивом Фелинга	Реакция на крахмал с йодом
1	Глюкоза	К +		К +	
2	Сахароза		К+		
3	Крахмал				К+
4	и т.д.				

ЛИПИДЫ

Общим свойством липидов является растворимость в органических растворителях и нерастворимость в воде. По химической природе липиды делят-

ся на: жиры и триглицериды, высокомолекулярные жирные кислоты, фосфолипиды, ценобозиды и др.

ОПЫТ 8. Образование масляного пятна

Каплю масла наносят стеклянной палочкой на кусочек бумаги. Образуется пятно, не исчезающее при нагревании.

ОПЫТ 9. Растворимость жиров

Ставят два ряда пробирок, по 4 – в каждом. В пробирки первого ряда вносят по несколько капель растительного масла, в пробирки второго ряда по кусочку твердого жира. В первую пробирку каждого ряда наливают дистиллированную воду, во вторую – ацетон, в третью – эфир, в четвертую – спирт. Все пробирки взбалтывают и наблюдают растворимость жиров в разных растворителях. Результаты наблюдений записывают в таблицу 3.

Таблица 3

№ пробирки	В-во	Растительное масло	Животный жир	Твердые растит. жиры
	Раств-ль			
1	Дистил. вода			
2	Ацетон			
3	Эфир			
4	Спирт			

НУКЛЕОПРОТЕИДЫ. НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ

Нуклеопротеиды – сложные белки, молекулы которых построены из простых белков, связанных с нуклеиновыми кислотами.

Нуклеиновые кислоты – полимеры, построенные из нуклеотидов.

Состав нуклеотидов: азотистые основания, углеводный компонент – пентоза (рибоза или дезоксирибоза), остатки фосфорной кислоты.

В зависимости от пентозы, входящей в их состав, нуклеиновые кислоты делятся на две большие группы: рибонуклеиновые (РНК); дезоксирибонуклеиновые (ДНК).

Выявление нуклеиновых кислот лучше проводить цитохимическими методами.

ОФОРМЛЕНИЕ ОТЧЕТА: Данные представить в виде трёх таблиц. Сделать выводы о наличии белков, жиров и углеводов в представленном материале.

Т е м а № 2. ФОТОСИНТЕЗ

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 2

ПИГМЕНТЫ ЗЕЛЕНОГО ЛИСТА

Фотосинтез, т.е. образование органических веществ из углекислоты и воды с использованием световой энергии, происходит в зеленых пластидах – хлоропластах. В состав хлоропластов входят белково-липоидная плазматическая основа (строма) и следующие пигменты:

Хлорофилл "а": $C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$ – зеленый с синеватым отливом;

Хлорофилл "б": $C_{55}H_{70}O_6N_4Mg$ – зеленый с желтоватым оттенком;

Каротин: $C_{40}H_{56}$ – желто-оранжевый;

Ксантофил: $C_{40}H_{56}O_2$ – золотисто-желтый.

Все эти пигменты нерастворимы в воде, но растворяются в органических растворителях (спирте, ацетоне и др.). Задача данной работы – получение спиртовой вытяжки из зеленых листьев и ознакомление с некоторыми свойствами пигментов.

ХОД РАБОТЫ

Свежие или сушеные листья измельчить ножницами, отбросив крупные жилки или черешки, поместить в ступку, добавить на кончике ножа $CaCO_3$ (для нейтрализации кислот клеточного сока) и немного чистого кварцевого песка или толченого стекла. Растереть в течение 10 мин., приливая понемногу этилового спирта, смазать носик ступки с наружной стороны вазелином и слить полученный темно-зеленый раствор по палочке в воронку с фильтром.

Налить полученную вытяжку по 2-3 мл в 4 пробирки и проделать следующие опыты:

ОПЫТ 1. Разделение пигментов по Краусу.

Добавить к спиртовой вытяжке пигментов чуть больший объем бензина и 2-3 капли воды (чтобы спирт не смешивался с бензином). Закрыть пробирку большим пальцем и несколько раз встряхнуть и дать отстояться. Если разделение пигментов будет недостаточно четким (оба слоя окрашены в зеленый цвет), то необходимо добавить еще бензина и продолжить взбалтывание. Помутнение нижнего слоя (от избытка воды) можно устранить, добавляя немного спирта. Отметить окраску нижнего спиртового слоя и верхнего бензинового (сделать рисунок).

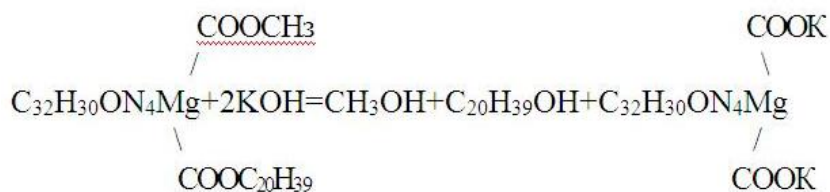
Сделать вывод о различной растворимости пигментов в спирте и бензине. При этом нужно учесть, что ксантофил, будучи двухосновным спиртом, почти нерастворим в бензине. В отношении каротина правильный вывод можно будет сделать, сопоставив результаты данного опыта и следующего.

ОПЫТ 2. Омыление хлорофилла щелочью.

К 2-3 мл спиртовой вытяжки пигментов добавить 4-5 капель 20% раствора щелочи и взболтать. Прилить в пробирку равный объем бензина, сильно

встряхнуть и дать отстояться. Отметить окраску спиртового и бензинового слоев (зарисовать).

В выводах записать реакцию омыления хлорофилла, в результате которой происходит отщепление спиртов – метилового и фитола, а двухосновная кислота и хлорофиллин дает соль:

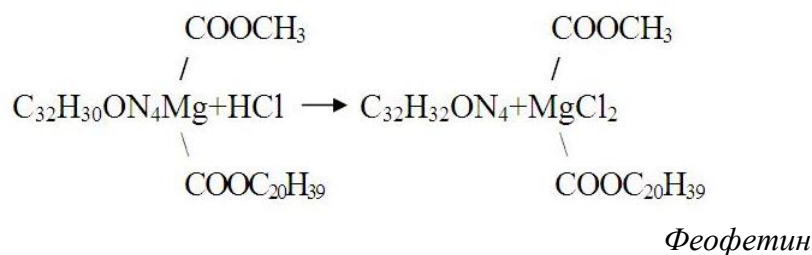


Соли хлорофиллинов имеют зеленую окраску, но отличаются от хлорофилла своей нерастворимостью в бензине.

Указать, какие вещества растворены в спирте и какие в бензине, имея в виду, что желтые пигменты со щелочью не реагируют.

ОПЫТ 3. Получение феофитина и восстановление металл-органической связи

Взять две пробирки со спиртовой вытяжкой пигментов и добавить в обе пробирки 2-3 капли 10%-ной соляной кислоты. Получается буровато-оливковое вещество – феофитин – продукт замещения магния в молекуле хлорофилла двумя атомами водорода:



В одну из пробирок с феофитином внести на кончике ножа уксуснокислого цинка и довести до кипения. Отметить изменение окраски, благодаря восстановлению металл-органической связи. (Атом цинка становится на то место, где раньше был магний). Написать уравнение этой реакции.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 3

РАЗДЕЛЕНИЕ ПИГМЕНТОВ МЕТОДОМ БУМАЖНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Хроматографический метод разделения пигментов заключается в том, что раствор, содержащий смесь пигментов, пропускается через слой адсорбента. Различные пигменты, обладая неодинаковой растворимостью в данном растворителе и разной адсорбируемостью, передвигаются по мере движения

растворителя с разной скоростью и располагаются на адсорбенте в разных местах. Чем больше растворимость пигмента в растворителе, и чем хуже он адсорбируется данным адсорбентом, тем быстрее он будет передвигаться и тем дальше будет располагаться зона этого пигмента.

Наибольшее распространение получила бумажная хроматография.

ХОД РАБОТЫ

Измельченные свежие листья поместить в ступку, добавить немного CaCO_3 и кварцевого песка или толченого стекла и растереть, постепенно приливая ацетон (на 2-3 г материала около 25 мл ацетона). Полученный раствор профильтровать через стеклянный фильтр в сухую колбу Бунзена (с насосом).

Налить вытяжку в бюкс и погрузить в нее кончик полоски, вырезанной из фильтровальной бумаги. Через несколько секунд, когда вытяжка поднимется по бумаге на 1-1,5 см, высушить бумагу на воздухе и снова погрузить в раствор пигментов на несколько секунд. Эту операцию повторять 5-7 раз, пока у верхней границы распространения пигментов на бумаге образуется темно-зеленая полоска. После этого опустить кончик бумаги в ацетон, чтобы все пигменты поднялись на 1-1,5 см.

Высушив полоску до полного исчезновения запаха ацетона, поместить ее в вертикальном положении в цилиндр, на дно которого налит петролейный эфир или бензин так, чтобы растворитель не касался окрашенной зоны. Рекомендуется зажать верхний конец полоски между двумя стеклянными палочками длиной немного меньше диаметра цилиндра. Соединить концы палочек отрезками резиновой трубки и вставить в цилиндр. Плотнo закрыть цилиндр пробкой или крышкой.

Через 10-15 мин растворитель поднимется по бумаге на 10-12 см. При этом пигменты расположатся в виде полос в следующем порядке: внизу хлорофилл "б"; над ним хлорофилл "а"; затем ксантофилл; а выше всех каротин, поднимающийся вместе с фронтом растворителя.

Зарисовать полученную хроматограмму и сделать вывод о причинах разделения пигментов на бумаге.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 4

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ХЛОРОФИЛЛА В ЛИСТЬЯХ

ХОД РАБОТЫ

Измельченные свежие листья поместить в ступку, добавить немного CaCO_3 , кварцевого песка и растереть, постепенно приливая ацетон. На 300-500 мг листьев 4-5 мл ацетона. Полученный раствор профильтровать через стеклянный фильтр в сухую колбу Бунзена (с масляным насосом). В ступку подливать порции ацетона 2-3 раза до тех пор, пока растворитель, стекающий с фильтра, не станет бесцветным. Полученный фильтрат поместить в мерную

колбу на 50 мл (хранить в холодильнике), довести объём до 50 мл. Оптическую плотность полученной вытяжки измерить на фотоколориметре (кювета 10 мм, красный светофильтр). Определить по калибровочному графику содержание хлорофилла в листьях. При оформлении отчета заполнить таблицу 4.

Таблица 4

Объект	Навеска мг	Объем вытяжки	Количество хлорофилла по калибро- вочной кривой мг/50 мл	Содержание хлорофилла в листьях мг/л (С)

$C = a/v \cdot 10^{-3}$, где С – содержание хлорофилла мг на г;
а – количество хлорофилла мг/50 мл;
в – навеска (мг) листьев.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 5

ВЛИЯНИЕ ВНЕШНИХ УСЛОВИЙ НА ИНТЕНСИВНОСТЬ ФОТОСИНТЕЗА

Для определения интенсивности фотосинтеза водных растений можно использовать метод счета пузырьков кислорода. На свету в листьях происходит процесс фотосинтеза, продуктом которого является кислород, накапливающийся в межклетниках. При срезании стебля избыток газа начинает выделяться с поверхности среза в виде непрерывного тока пузырьков, быстрота образования которых зависит от интенсивности фотосинтеза. Данный метод дает представление о тесной зависимости процесса фотосинтеза от внешних условий.

ХОД РАБОТЫ

Поместить веточку элодеи с неповрежденной верхушечной почкой в кювету с водой и обновить срез острой бритвой для устранения возможной закупорки путей при выходе газа. Погрузить веточку срезом вверх в пробирку с водой, предварительно обогащенной углекислым газом путем растворения небольшого количества соды (перед погружением веточки внести в пробирку на кончике ножа NaHCO_3 и взболтать).

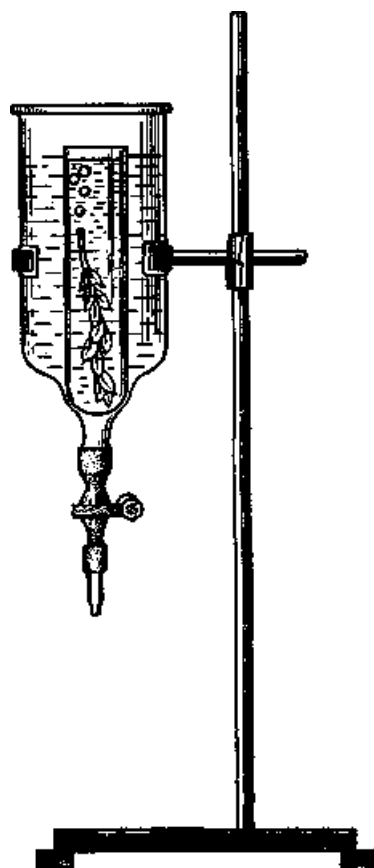


Рис. 1. Установка для учета фотосинтеза методом счета пузырьков

Поместив пробирку с веточкой элодеи в те или иные условия, подождать пока установится равномерный ток пузырьков, перевернуть песочные часы и подсчитать количество пузырьков, выделенных за определенное время. Используя в качестве источника света настольную лампу мощностью 100-200 Вт, проделать следующие опыты.

ОПЫТ 1. Влияние освещенности

Налить воду, нагретую до 30°C, в колбу или стеклянный цилиндр со стоком внизу (рис. 1) и вставить в этот сосуд пробирку с веточкой элодеи. Подсчитать количество пузырьков кислорода при различных расстояниях от источника света.

ОПЫТ 2. Влияние спектрального состава света

Подсчитать количество пузырьков при освещении белым светом (пробирка погружена в сосуд с водой). Затем провести наблюдение при красном экране, заменяя воду в наружном сосуде раствором $K_2Cr_2O_7$, который пропускает красные, оранжевые и желтые лучи и не пропускает синефиолетовые. После этого определить интенсивность фотосинтеза при синем экране, наливая в наружный сосуд раствор серно-аммиачно-медной соли, пропускающий голубые, синие и фиолетовые лучи, но задерживающий длинноволновую часть спектра. Все три наблюдения провести с жидкостями одинаковой температуры и на одном расстоянии от источника света.

ОПЫТ 3. Влияние температуры

Налить в наружный сосуд сначала теплую, затем холодную воду и произвести отсчеты при одинаковом расстоянии от источника света. Результаты опыта записать в таблицу 5.

Таблица 5

Расстояние от источника света, см	Экран	Температура 0°С	Количество пузырьков O ₂ за 5 мин
5	белый	30	
10	белый	30	
20	белый	30	
5	белый	30	
5	красный	30	
5	белый	30	
5	белый	10	

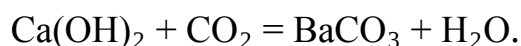
Сделать вывод о влиянии исследованных факторов на интенсивность фотосинтеза.

Т е м а № 3. ДЫХАНИЕ РАСТЕНИЙ

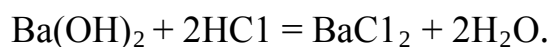
ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 6

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ИНТЕНСИВНОСТИ ДЫХАНИЯ ПО КОЛИЧЕСТВУ ВЫДЕЛЕННОЙ УГЛЕКИСЛОТЫ

Для определения интенсивности дыхания по количеству выделенной CO_2 в замкнутый сосуд помещают навеску исследуемого материала (проросшие семена) и определенное количество раствора щелочи (рис. 2). Выделяемый CO_2 реагирует со щелочью, в результате чего концентрация раствора уменьшается



Через определенное время оставшуюся в растворе щелочь титруют:



Сравнивают полученную величину с результатом титрования такого же количества исходного раствора щелочи.

ХОД РАБОТЫ

Положить навеску исследуемого материала в марлевый мешочек и поместить в колбу с децимальным раствором Ba(OH)_2 (10 мл), предварительно добавив в него две капли фенолфталеина. Плотнo заткнуть пробку. Время от времени колбу надо покачивать, чтобы разрушить пленку BaCO_3 на поверхности жидкости. Одновременно ставится контрольный опыт (такая же колба но без материала). Через 1-2 ч вынуть материал, плотно закрыть пробку. Провести титрование оставшейся щелочи, приливая из бюретки (рис. 2) 0,1 н соляную кислоту до исчезновения розового окрашивания. Результат записать в таблицу 6.

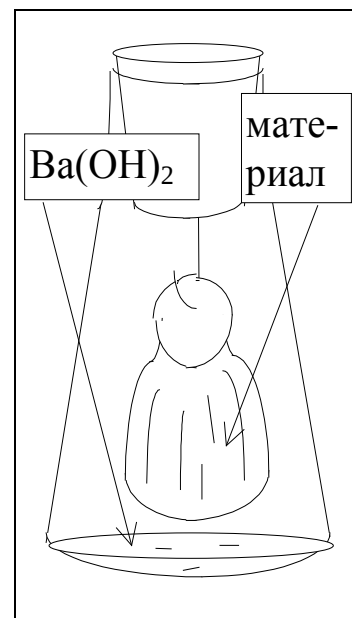


Рис. 2. Колба для определения интенсивности дыхания

Таблица 6

Объект	Вес пробы, г	Налито Ba(OH), мл	Время			Прилило HCl, мл		Поправочный коэффициент HCl	Интенсивность дыхания мг/г·ч
			Начало опыта	Конец опыта	Продолжительность	Контроль	Опыт		
Контроль									
Проба 1									

Интенсивность дыхания вычисляется по формуле:

$$X = \frac{(a - в) \cdot K \cdot 2,2}{P \cdot t},$$

где а – результат титрования содержимого контрольной пробы;

в – результат титрования содержимого опытной пробы;

К – поправочный коэффициент к T_{HCl} ;

2,2 – количество (мг) CO_2 , эквивалентное 1 мл 0,1 н HCl;

P – вес пробы (г);

t – продолжительность опыта, ч.

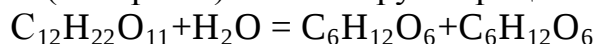
Сделать вывод, сопоставив интенсивность дыхания разных объектов.

Т е м а № 4. ПРЕВРАЩЕНИЕ ОРГАНИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 7

ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ И РЕАКЦИИ СРЕДЫ НА АКТИВНОСТЬ САХАРАЗЫ

Фермент сахараза (инвертаза) катализирует процесс гидролиза сахарозы:



Этот фермент имеется у большинства растений и животных. Наиболее активную сахаразу содержат клетки дрожжей.

Для изучения влияния внешних условий на активность сахаразы ставят следующий опыт: помещают в несколько пробирок одинаковое количество раствора фермента и одинаковое количество сахарозы и выдерживают про-

бирки в разных условиях. Через некоторое время во всех пробирках проводят реакцию с Фелинговой жидкостью, которая восстанавливается при кипячении с глюкозой и фруктозой, но не реагирует с сахарозой. По количеству осадка закиси меди судят о количестве образовавшихся при гидролизе сахарозы моносахаридов.

Количество продуктов реакции будет характеризовать активность фермента.

ХОД РАБОТЫ

Поместить в ступку 10 г свежих или 5 г сухих дрожжей, добавить кварцевого песка или толченого стекла, 5 мл воды и тщательно растереть, затем добавить еще 15 мл воды, нагретой до 60°C, и оставить на полчаса, продолжая время от времени растирание. Слить по палочке полученную жидкость в фарфоровую воронку, отверстие которой закрыть бумажным фильтром и профильтровать в колбу Бунзена при помощи масляного насоса (можно делать в одну колбу). Взять 7 пробирок, снабдить их этикетками и налить во все пробирки по 0,5 мл фильтрата.

Пробирка № 1 – добавить 2 мл воды и поставить в снег.

Пробирка № 2 – добавить 2 мл воды.

Пробирка № 3 – добавить 2 мл воды и поставить в колбу с водой $t=40^{\circ}\text{C}$.

Пробирка № 4 – добавить 2 мл воды и вскипятить, тщательно прогревая стенки пробирки.

Пробирка № 5 – добавить 2 мл 0,1 н HCl.

Пробирка № 6 – добавить 0,2 мл 0,1 н HCl и 1,8 мл воды.

Пробирка № 7 – добавить 2 мл 0,1 н NaOH.

Затем прилить во все пробирки из бюретки по 2 мл 10% раствора сахарозы и перемешать, постукивая пробиркой по ладони. Пробирку №1 немедленно опять погрузить в снег, пробирку №3 – в воду $t = 40^{\circ}\text{C}$, а остальные оставить в штативе.

Через 15 мин прилить из бюретки во все пробирки по 2 мл Фелинговой жидкости и нагреть до 100°C, погружая пробирки на 5 мин в кипящую водяную баню.

Дать оценку количества образовавшегося осадка закиси меди в баллах:

0 – нет; 3 – средне;

1 – очень мало; 4 – много;

2 – мало; 5 – очень много.

Результаты записать в таблицу 7, при этом принять во внимание, что:

пробирки № 1–4 – среда нейтральная ($\text{pH} = 7$);

пробирка № 5 – сильноокислая ($\text{pH} = 3$);

пробирка № 6 – слабоокислая ($\text{pH} = 5$);

пробирка № 7 – щелочная ($\text{pH} = 9$).

Сделать выводы о зависимости активности сахаразы от температуры и pH и начертить соответствующие графики.

Таблица 7

№ пробирки	1	2	3	4	5	6	7
Температура, °С	0	20	40	100	20	20	20
pH	7	7	7	7	3	5	9
Количество закиси меди (балл)							

Т е м а № 5. МИНЕРАЛЬНОЕ ПИТАНИЕ РАСТЕНИЙ

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 8

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ЗОЛЫ В РАЗНЫХ ЧАСТЯХ РАСТЕНИЙ

При сжигании растительного материала углерод, азот и водород улетучиваются в виде углекислого газа, воды и молекулярного азота. Остающийся после сжигания нелетучий остаток (зола) содержит элементы, называемые зольными. Содержание зольных элементов в разных растениях и в частях одного растения неодинаково и зависит от состава почвы, физиологических особенностей и возраста растения, а также от соотношения между живыми и мертвыми клетками в исследуемых частях растения.

ХОД РАБОТЫ

ОПЫТ 1. Озоление древесины

Навеску древесины 3-5 г сжечь над предварительно взвешенным тиглем. Поместить обуглившийся материал в тигель, прокалить на плитке до исчезновения дыма. Затем поставить тигель в муфельную печь, предварительно нагретую до температуры красного каления на 1 час. После полного озоления, охлажденный тигель с золой взвесить.

ОПЫТ 2. Озоление листьев и семян

Высушенную навеску листьев или семян массой 0,5-1 г растереть в ступке. Сжечь в предварительно взвешенном тигле, подливая спирт. Горячий тигель перенести на плитку и прокалить до исчезновения дыма. Прокаленную золу в тигле перенести в муфельную печь, нагретую до температуры красного каления. После полного озоления материала, охлажденный тигель с золой взвесить на аналитических весах.

Таблица 8

Название растения	Часть растения	Номер тигля	Вес тигля, г			Чистый вес, г		
			пустого	с материалом	с золой	материал	зола	% золы

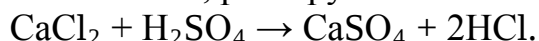
МАКРОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЗОЛЫ

Зола, получаемая при сжигании растений, содержит большое количество элементов, среди которых различают макроэлементы (фосфор, сера, калий, кальций, магний), а также микроэлементы (железо, медь, цинк, марганец, молибден, бор и ряд других).

ХОД РАБОТЫ

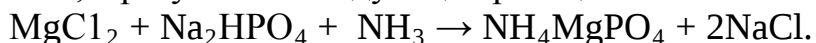
Насыпать в пробирку небольшое количество золы и залить ее примерно четырехкратным объемом 10%-ной соляной кислоты. Отфильтровать. Провести на предметных стеклах реакции на Ca, Mg и P. Для этого тупым концом стеклянной палочки нанести на предметное стекло маленькую каплю вытяжки и на расстоянии 4–5 мл от нее – каплю соответствующего реактива. Затем заостренным концом стеклянной палочки соединить капли дугообразным каналом. В месте соединения произойдет реакция, причем по краям канала будет наблюдаться быстрая кристаллизация продуктов реакции. Рассмотреть кристаллы в микроскоп. Стеклянные палочки после нанесения каждого реактива необходимо вымыть и вытереть фильтр бумагой.

1) Реактивом на кальций служит 1%-ная H_2SO_4 . При этом хлористый кальций, содержащийся в вытяжке, реагирует с кислотой по уравнению:

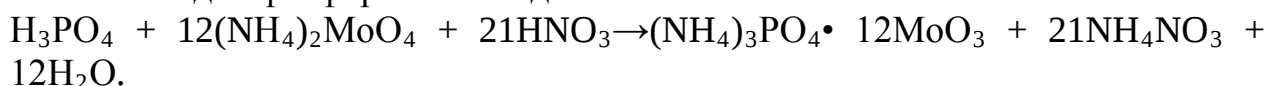


Образующийся гипс осаждается в виде игольчатых кристаллов.

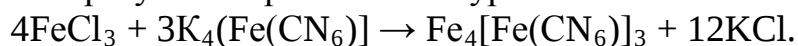
2) Для обнаружения магния в капле испытуемого раствора следует сначала добавить каплю раствора аммиака, а затем соединить каналцем с реактивом (1%-ный раствор Na_2HPO_4). Образуется фосфорно-аммиачно-магнезиальная соль, кристаллизующаяся в виде прямоугольников, крышечек звезд или крыльев, в результате следующей реакции:



3) Для обнаружения фосфора соединить каплю вытяжки с 1 %-ным раствором молибдата аммония в азотной кислоте. Получается зеленовато-желтый осадок фосфорно-молибденового аммиака:



4) Железо можно обнаружить с помощью раствора желтой кровяной соли. В результате образуется берлинская лазурь:



Реакцию на железо рекомендуется проводить в пробирке.

Результаты оформить в виде рисунков кристаллов фосфоаммиачно-магнезиальной соли, фосфорно-молибденового аммиака.

Записать уравнения реакций.

Т е м а № 6. ВОДНЫЙ РЕЖИМ РАСТЕНИЙ

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 10

СРАВНЕНИЕ ТРАНСПИРАЦИИ ВЕРХНЕЙ И НИЖНЕЙ СТОРОН ЛИСТА ХЛОРКОБАЛЬТОВЫМ МЕТОДОМ

Если прижать к листу предварительно высушенный кусок фильтровальной бумаги, пропитанный раствором хлористого кобальта, то бумага, поглощая выделяющиеся в процессе транспирации водяные пары, будет менять свою голубую окраску (цвет сухого CoCl_2) на розовую (цвет $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$). По скорости изменения окраски можно приблизительно судить об интенсивности транспирации,

ХОД РАБОТЫ

Просушить над электроплиткой сложенный пополам, кусок хлоркобальтовой бумаги до появления ярко-голубого цвета и немедленно приложить его к двум сторонам листа (свежесорванного или непосредственно на растении).

Хлоркобальтовые бумажки следует держать пинцетом, не прикасаясь к ним руками, на которых могут остаться розовые пятна. Чтобы устранить влияние атмосферной влаги, осторожно зажать лист вместе с бумагой между двумя стеклянными пластинами и перевязать их резиновыми кольцами

Наблюдать за изменением окраски хлоркобальтовой бумаги и записать результат.

Сделать срезы верхнего и нижнего эпидермиса, рассмотреть их в микроскоп при большом увеличении и зарисовать. При работе с традесканцией можно срезы не делать, т.к. устьица можно увидеть и на целом листе.

Сделать выводы о причинах различной интенсивности транспирации верхней и нижней сторон листа данного растения по соотношению между устьичной и кутикулярной транспирацией.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Биология : углубленный курс: учебник для бакалавров / под ред. В. Н. Ярыгина. – 6-е изд., испр. и доп. – Москва: Юрайт, 2013. – 763 с.
2. Викторова, Т. В. Биология : учебное пособие для вузов / Т. В. Викторова, А. Ю. Асанов. – 2-е изд., стер. – Москва: Академия, 2013. – 320 с.
3. Тихановская, Г. А. Общая биология: учебное пособие / Г. А. Тихановская, Л. Г. Рувинова. – Вологда: ВоГТУ, 2009. – 167 с.
4. Тулякова, О. В. Биология / О. В. Тулякова. – Москва: Директ-Медиа, 2013. – 449 с.

СОДЕРЖАНИЕ

ПРЕДИСЛОВИЕ	3
ВВЕДЕНИЕ.....	3
Тема № 1. Химическая основа жизни	
Лабораторная работа № 1. Качественная реакция на белки и продукты их гидролиза	5
Тема № 2. Фотосинтез	
Лабораторная работа № 2. Пигменты зеленого листа.....	9
Лабораторная работа № 3. Разделение пигментов методом бумажной хроматографии.....	10
Лабораторная работа № 4. Определение содержания хлорофилла в листьях	11
Лабораторная работа № 5. Влияние внешних условий на интенсивность фотосинтеза	12
Тема № 3. Дыхание растений	
Лабораторная работа № 6. Определение интенсивности дыхания по количеству выделенной углекислоты	14
Тема № 4. Превращение органических веществ	
Лабораторная работа № 7. Влияние температуры и реакции среды на активность сахарозы.....	15
Тема № 5. Минеральное питание растений	
Лабораторная работа № 8. Определение содержания золы в разных частях растений.....	17
Лабораторная работа № 9. Макрохимический анализ золы	18
Тема № 6. Водный режим растений	
Лабораторная работа № 10. Сравнение транспирации верхней и нижней сторон листа хлоркобальтовым методом	19
БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК	19

БИОЛОГИЯ

Методические указания к лабораторному практикуму

Редактор – Л.А. Перерукова
Оригинал-макет – О.М. Ванчугова

Подписано в печать 21.12.2015 г. Формат 60 × 84/16.
Усл. п. л. 1,25. Тираж экз. Заказ №

РИО ВоГУ. 160000, г. Вологда, ул. С. Орлова, 6.