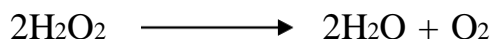


ЛАБОРАТОРНА РОБОТА 12

ВИЗНАЧЕННЯ АКТИВНОСТІ КАТАЛАЗИ В ЛИСТКАХ РОСЛИН

Каталаза – це фермент класу оксидоредуктаз, простетичною групою якого є залізорпорфїрин. При багатьох окислювальних-відновних реакціях утворюється пероксид водню, надлишок якого є токсичним для клітини. Каталаза каталізує його розщеплення на воду і молекулярний кисень за реакцією

Каталаза



Каталаза широко розповсюджена в рослинних тканинах і є одним з найактивніших ферментів. Роль її полягає в забезпеченні киснем тих ділянок рослинних тканин, куди доступ кисню ускладнений. Цей фермент було виявлено в мікротільцях (пероксисомах), що беруть участь у процесі фотодихання.

Об'ємний метод визначення активності каталази базується на відновленні об'єму молекулярного кисню, що виділяється при розпаді пероксиду водню в дослідній тканині під впливом каталази.

Для визначення активності каталази використовують прилад, який складається з конічної колби на 150 мл, скляної груші та бюретки. Усі частини приладу з'єднані гумовими трубками і скляним трійником, бюретка і скляна груша, зафіксовані в штативі. Грушу та бюретку заповнюють дистильованою водою.

Мета роботи: визначити активність каталази в дослідній рослинній тканині

Прилади і матеріали: фарфорова ступка, колба на 250 мл, 3%-ий розчин пероксиду водню, скляний стакан, трійник, бюретка, штатив.

Хід роботи

1. Наважку рослинного матеріалу (1 г) добре розтерти у фарфоровій ступці з 0,5 г крейди для створення слабо лужного середовища, оптимального для дії каталази (рН 7,0 – 7,7).

2. Розтерту масу перенести в колбу, ступку промити водою, яку також злити в колбу.

3. На дно колби пінцетом поставити невеликий стаканчик, в який налити 2 мл 3%-го розчину пероксиду водню. Колбу закрити пробкою, з'єднаною через трійник із бюреткою.

4. Рівні в груші та бюретці виміряти, колбу стряхнути так, щоб стаканчик перекинувся і його вміст змішався з рослинним матеріалом. Кисень, який виділяється в результаті реакції, знижує рівень води у бюретці. Кожну хвилину робити заміри. Дослід закінчити через 5 хвилин.

5. Об'єм витісненої води дорівнює об'єму кисню, який виділяється під час розпаду пероксиду водню під дією каталази дослідної рослинної тканини. За об'ємом кисню можемо судити про ферментативну активність каталази.

6. Активність каталази розрахувати за формулою

$$A = \frac{V \cdot 60}{n \cdot t}$$

де V – об'єм витісненої води, мл;

n – наважка, г;

t – час досліду, хв;

60 – коефіцієнт перерахунку, хв.

Контрольні запитання

1. До якої групи ферментів належить каталаза?
2. Що входить до складу простетичної групи каталази?
3. За яким рівнянням відбувається розщеплення пероксиду водню?
4. У чому полягає фізіологічна роль каталази в рослинах?
5. Який принцип методу визначення активності каталази?

КОРЕНЕВЕ ЖИВЛЕННЯ РОСЛИН

Кореневе живлення – розділ фізіології рослин, який присвячений вивченню метаболізму поживних елементів. Основні питання, які досліджуються в даному розділі є: надходження елементів живлення врослинний організм, їх перетворення, фізіолого-біохімічне значення, механізм дії тощо.

Рослина засвоює поживні елементи з ґрунту, повітря і води. Основну частину елементів рослина засвоює з ґрунту у вигляді мінеральних сполук; CO₂ та кисень – з повітря; джерелом водню є вода. Обидва способи живлення рослин – повітряний і кореневий – взаємопов'язані. Наразі у рослин чітко проявляється вибіркова здатність поглинати відповідні хімічні елементи.

Усі елементи живлення рослин за їхнім умістом у клітинах поділяють на елементи-органогени, макро-, мікро- та ультрамікроелементи. У більшості рослин близько 95 % сухої речовини складають елементи-органогени (С, Н, О, N), приблизно 4% – макроелементи (Р, К, Са, Mg, S, Cl, Na, Si, Al, Fe) і лише 1 % – мікроелементи (Mn, В, Cu, Zn, Ва, Ni, Мо, Со) та ультрамікроелементи (Cs, Cd, Ag, Ra, Au, Hg, As та ін.). Для нормального перебігу всіх фізіолого-біохімічних процесів рослина має бути забезпечена

всіма поживними елементами, кожен із яких має певне значення у метаболізмі. Зокрема, встановлена необхідність елементів живлення для нормального функціонування протоплазми, для структурної організації й активності живих клітин, передусім завдяки їх участі у генерації і регенерації енергії, для регуляції процесів обміну. Дослідження функції елементів живлення у життєдіяльності рослин дає змогу науковцям і практикам досягати високої продуктивності сільськогосподарських культур.

Вирішення багатьох практичних завдань живлення рослин потребує глибоких теоретичних досліджень, вивчення фізіолого-біохімічного значення поживних елементів, механізму їхнього поглинання, транспортування і використання рослиною. Відповідь на всі ці питання можна одержати експериментальним шляхом, застосовуючи фізіологічні, хімічні і фізико-хімічні методи. У даному розділі описано основні методичні прийоми вирощування рослин методом водної культури (встановлення рН живильного розчину, забезпечення киснем, водою тощо).

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА 13

ВИЗНАЧЕННЯ В ЗОЛІ МАКРО- І МІКРОЕЛЕМЕНТІВ

Поживні елементи, які поглинаються рослинами з ґрунту в різних концентраціях, мають певне біохімічне і фізіологічне значення і відповідають за синтез відповідних речовин у рослинному організмі.

Азот входить до складу амінокислот, білків, нуклеїнових кислот, гормонів росту, багатьох вітамінів, хлорофілу й інших життєво важливих органічних сполук.

Фосфор – компонент фосфопротеїнів, нуклеїнових кислот (НК), фосфоліпідів, фосфорних ефірів цукрів, нуклеотидів. Особливе значення фосфору в енергетиці клітини, оскільки він входить до складу основних енергетичних депо АТФ і НАДФ. Фосфор посилює накопичення цукрів у фруктах і овочах, крохмалю в бульбах картоплі.

Калій складає основну частину катіонів клітинного соку і є основним йоном нейтралізації від'ємно заряджених аніонів. Цей макроелемент сприяє підтримці стану гідратації колоїдів цитоплазми, регулює її водоутримуючу здатність і забезпечує надходження води в рослину, допомагає рослинам легше переносити посуху і заморозки. Калій потрібен для поглинання і транспортування води по рослині, один із катіонів-активаторів ферментних систем. Під впливом калію посилюється накопичення крохмалю в бульбах картоплі, сахарози в цукровому буряку, моносахаридів у плодах і овочах, підвищується стійкість рослин до грибкових і бактеріальних захворювань.

Кальцій стабілізує функції усіх клітинних структур. Йони кальцію виконують сигнальну функцію і є універсальними регуляторами життєдіяльності клітини. Кальцій регулює активність ферментів, бере участь у структурній організації хромосом, є зв'язуючою ланкою між ДНК і білком, виконує різноманітні функції в обміні речовин організму.

Магній входить до складу хлорофілу, підтримує структуру рибосом, сприяє обміну речовин, підвищує активність ферментів, він необхідний для процесів дихання, фотосинтезу, синтезу НК і білків. Магній підсилює синтез ефірних олій, каучуку, вітамінів А і С.

Сірка входить до складу амінокислот – цистину, цистеїну, метіоніну; вітамінів – ліпоєвої кислоти, біотину, тіаміну; деяких антибіотиків, зокрема пеніциліну та багатьох ферментів. Одна з основних функцій сірки – участь SH-групи в утворенні ковалентних, водневих, меркаптидних зв'язків. Інша важлива функція сірки – підтримка певного рівня окисно-відновного потенціалу клітини. Залізо міститься в окисно-відновних ферментах (цитохроми,

цитохромоксидаза, каталаза, пероксидаза) і має важливе значення у диханні рослин, фотосинтезі, синтезі хлорофілу тощо.

В аналітичній хімії існує низка методів, за допомогою яких можна якісно й кількісно визначати наявність у золі певних елементів. Це потрібно для встановлення потреби рослин в елементах живлення.

Мета роботи. Визначити хімічний склад золи деревини кількох видів рослин: яблуні, сосни, берези; оцінити значення золи як мінерального добрива.

Матеріали, реактиви, обладнання. Зола деревини досліджуваних рослин; вода дистильована, HNO_3 (конц.), CH_3COOH (конц.), 1 н. розчин NaOH , 5 %-і розчини HCl , NH_4CNS , гексанітрокобальтату натрію, щавлевої кислоти, 10 %-і розчини $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$, BaCl_2 , HNO_3 , етиловий спирт, кристалічний NH_4NO_3 , пероксид свинцю, персульфат амонію; порцелянові тиглі, електрична плитка, фільтри, пробірки, лакмусовий папір, піпетки, чашки Петрі.

Хід роботи.

1. У порцеляновий тигель помістити 1 г золи, додати 1 мл концентрованої HNO_3 , перемішати скляною паличкою і додати 10-20 мл дистильованої води.

2. Тигель з кислотною витяжкою золи поставити на електричну плитку, розчин довести до кипіння, відфільтрувати.

3. Одну частину фільтрату розлити у три пробірки по 2 мл для визначення калію, фосфору, сірки.

- Визначення калію. До 2 мл фільтрату додати 0,5 мл кобальтнітриту натрію і 2 мл етилового спирту. Витримати 15-30 хв. За наявності йонів калію випадає жовтий осад.

- Визначення фосфору. До 2 мл фільтрату внести кристали нітрату амонію NH_4NO_3 , довести до кипіння, додати 1 мл 10 %-го водного розчину $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$. За наявності йонів фосфору випадає золотаво-жовтий осад.

- Визначення сірки. До 2 мл фільтрату додати 1 мл 10 %-го розчину BaCl_2 . За наявності SO_4^{2-} утворюється біла каламуть.

4. Другу частину фільтрату довести розчином NaOH до слабкої лужної реакції (за лакмусом) і відфільтрувати драглистий осад, в якому міститься $\text{Al}(\text{OH})_3$, $\text{Fe}(\text{OH})_3$, $\text{Mn}(\text{OH})_2$.

Увага! Осад зберігають для визначення заліза та марганцю (див. п. 6.).

5. Лужний розчин після фільтрування нейтралізувати HCl і підкислити кількома краплями оцтової кислоти для визначення кальцію.

- Визначення кальцію. До 2 мл фільтрату додати 1 мл 5 %-го розчину щавлевої кислоти. За наявності йонів кальцію розвивається біла каламуть.

6. Драглистий осад на фільтрі облити 10 мл азотної кислоти, відфільтрувати, фільтрат розлити у дві пробірки по 2 мл для визначення заліза і марганцю.

Примітка. Використовують фільтрат, що залишився після відокремлення драглистого осаду, нейтралізований та підкислений оцтовою кислотою (п. 4).

- Визначення заліза. До фільтрату в пробірку додати 2-3 краплини 5 %-го NH_4CNS . За наявності заліза розвивається червоне забарвлення.

- Визначення марганцю. До 2 мл фільтрату додати 0,5 мл концентрованої азотної кислоти і 0,5 мл пероксиду свинцю (або 0,1 г персульфату амонію), нагріти 5 хв. на киплячій водяній бані. Якщо є марганець, розчин забарвлюється у фіолетовий колір.

7. Результати дослідів записати у таблицю 1.

Таблиця 1

Хімічний склад золи

Елемент	Реактив	Результат реакції

Контрольні запитання та завдання

1. Що таке вибіркова поглинальна здатність?
2. Чому концентрація поживних елементів у рослин і в ґрунті суттєво відрізняється?
3. Наведіть приклади життєво необхідних елементів живлення рослин. Яке фізіологічне значення життєво необхідних елементів у метаболізмі рослин.