

10 КЛАСС

ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

Методические рекомендации к проведению практического тура. Кабинет «Физиология растений». 10 класс

1. Подготовка оборудования и организация эксперимента

Для проведения работы необходимо оборудовать хорошо проветриваемое помещение без открытых источников огня!

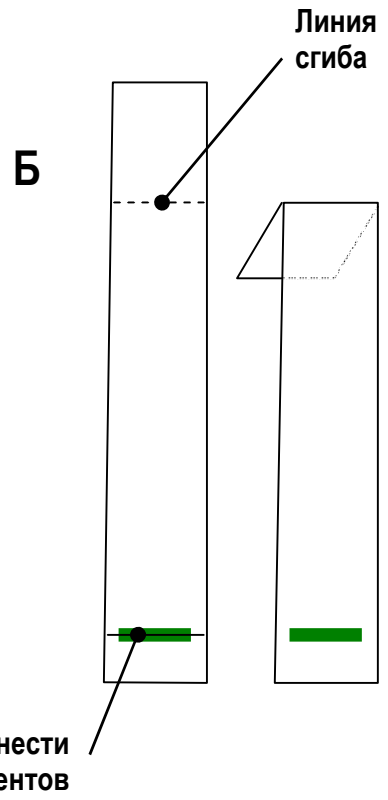
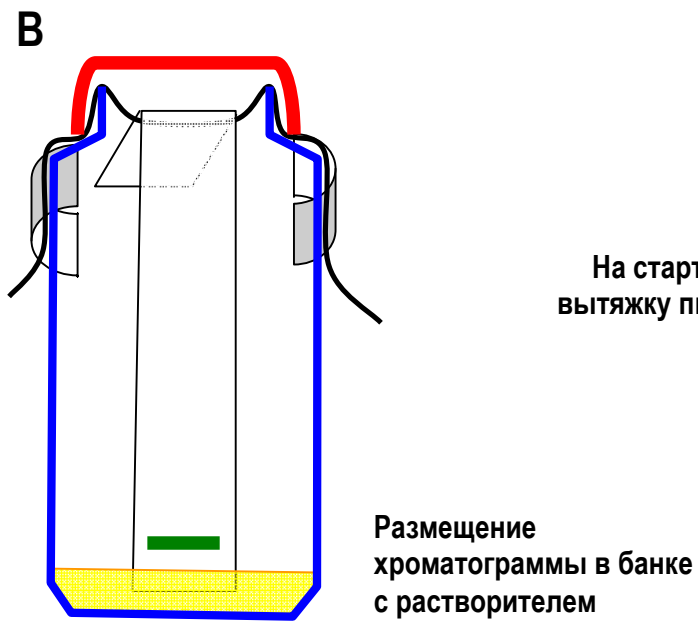
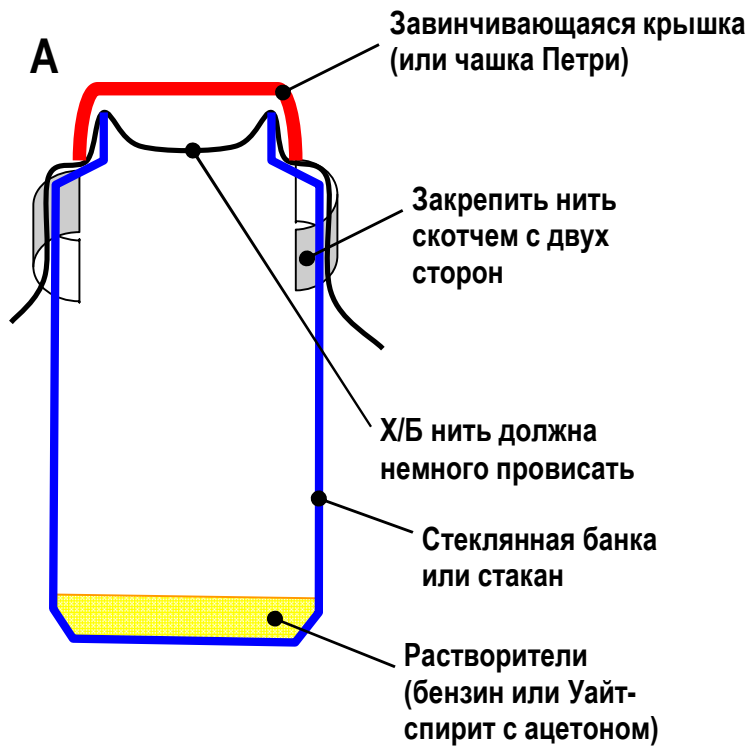
А. Приготовление спиртовой вытяжки

1. Для успешного результата по разделению пигментов листа следует учесть некоторые особенности приготовления спиртовой вытяжки. Лучше использовать листья с малым содержанием воды. В зимнее время содержание пигментов в листьях многих комнатных растений, как правило, заметно снижается. Поэтому рекомендуется приготовить спиртовую вытяжку из листьев петрушки, которую можно купить в магазине. Не годятся водянистые листья, а также утратившие яркую зеленую окраску, пожелтевшие. Петрушку можно заменить листьями гибискуса («китайской розы»).
2. Для приготовления спиртовой вытяжки следует использовать только слегка обсушенные листья [без капель воды!]. Их нужно мелко нарезать и растереть в ступке с добавлением кварцевого песка и мела (!) в кашицу, добавив 96% этиловый спирт.
3. Полученную спиртовую вытяжку пигментов профильтровать. Вытяжку желательно готовить в день проведения практической работы.

Б. Оборудование:

1. В качестве сосуда, в котором учащиеся будут проводить разгонку пигментов, можно выбрать высокую и узкую банку с завинчивающейся металлической крышкой или химический стакан, который нужно плотно накрыть чашкой Петри. Главное условие: на горлышко сосуда заранее при помощи скотча крепят нитку. Нитка должна провисать свободно, чтобы можно было на нее повесить полоску фильтровальной бумаги и прикрыть сосуд крышкой или чашкой Петри (см. рис. 1).
2. Для разгонки пигментов листа предлагаем использовать бензин. Лучше купить бензин для зажигалок. Заменителем может служить Уайт-спирит (100 частей) с добавлением ацетона (обычно 3 части, но эта величина зависит от качества Уайт-спирита, поэтому заранее лучше испробовать разные варианты). Добавление ацетона повышает подвижность хлорофиллов и ксантофиллов, а увеличение доли Уайт-спирита – понижает.
3. Растворитель наливают на дно сосуда слоем около 3 см, сосуд закрывают и в таком виде выставляют на стол. Перед проведением работы банка или стакан должны насытиться парами растворителя хотя бы 30 минут. **Не разрешайте школьникам надолго открывать крышку!**
4. Для нанесения пигментов можно использовать тонкие капилляры, пастеровские пипетки, шприцы с тонкой иглой («инсулиновые»), а также срезанную наискосок трубочку для коктейля (получается что-то вроде пера, которым можно наносить пигменты на линию старта).

Рис. 1.



Ответы. Критерии оценки работы:

А. Критерии оценки

Общая оценка за практический тур – 20 баллов. Из них:

1. **6 баллов – практическая часть работы** – хроматограмма, на которой четко видны 4 цветовых пятна (рис. 2). В зависимости от состава смеси растворителей и качества приготовленной вытяжки пятен может быть больше.

Первым рядом с фронтом растворителя идет темно-желтое пятно, принадлежащее β -каротину (самое большое значение Rf). Все нижележащие желтые пятна принадлежат ксантофиллам (более общее название – каротиноиды). Оба варианта ответа считать правильными. Ближе к середине находятся сине-зеленое пятно хлорофилла *a* и желто-зеленое пятно хлорофилла *b*. Не всегда удается хорошо разделить хлорофиллы *a* и *b* (тогда пятна сливаются, но видно, что верхний край общего зеленого пятна сине-зеленого оттенка, а нижний край – желто-зеленого).

При высоком содержании кислот в листе или при длительном хранении вытяжки пигментов, или при попадании света хлорофиллы переходят в феофитин, который виден как серая полоса (или пятно).

2. **14 баллов – теоретическая часть.** Из них:

- ответы на вопросы №1-1 балл,
- ответ на вопрос №2 – 1 балл
- ответ на вопрос №3- 2 балла;
- таблица – по 5 баллов (по 1 баллу за каждую строку);
- функции листа – 5 баллов (наиболее полный ответ)

итого – 20 баллов

Ответы

1. Как называется данный метод разделения пигментов?

Хроматография (хроматографический)

2. Напишите фамилию и имя ученого, разработавшего данный метод разделения пигментов. Михаил Семенович Цвет

3. Какие пигменты теоретически должны присутствовать в спиртовой вытяжке зеленого листа?

каротины,

хлорофилл a, хлорофилл b,

ксантофиллы (каротиноиды) – здесь может быть конкретизация ответа: в частности зеаксантин, виолаксантин, лютеин
феофитин

Табл. 1. Пигменты листа

№ пигмента на хроматограмме (вниз от фронта растворителя по убыванию Rf)	Цвет пигмента	Rf	Название пигмента
1	Темно-желтый или оранжево-желтый	Max	β -каротин
2	Ярко-желтый, желтый или светло-желтый	?	Ксантофилл (каротиноид)
3	Серый или буровато-серый	?	Феофитин
4	Сине-зеленый (или темно-	?	Хлорофилл a

	<i>зеленый, или ярко-зеленый)</i>		
5	<i>Желтовато-зеленый</i>	<i>Min</i>	<i>Хлорофилл b</i>

Точно предсказать величину Rf очень сложно. Она зависит от свойств фильтровальной бумаги, состава смеси растворителей, техники нанесения пигментов. Можно лишь сказать, что для каротина Rf будет всегда больше, чем для хлорофиллов, а у хлорофилла а больше, чем у хлорофилла b. Точному определению Rf препятствует неровный контур пигментного пятна. При выполнении практического задания важно требовать у школьников знания общего принципа измерения Rf как отношения расстояния от центра пятна до старта к расстоянию от старта до фронта растворителя.

4. Перечислите **функции** каждого из пигментов, указанных в таблице 1.

пятно №1 *β-каротин* – [функции даны по убыванию их значимости]

а) *дополнительный пигмент (помогает улавливать свет в более широком диапазоне длин волн; б) предотвращение образования синглетного кислорода (разные механизмы); в) жирорастворимый антиоксидант; г) донор электронов для P₆₈₀ при определенных обстоятельствах.* [есть и другие функции]

пятно №2 *ксантофилл* – а) *дополнительный пигмент (помогает улавливать свет в более широком диапазоне длин волн); б) участвует в ксантофилловом цикле, что позволяет регулировать миграцию энергии к P₆₈₀ -рассеивание избытка энергии в виде тепла ; в) исходное вещество при биосинтезе АБК (абсцизоовой кислоты.* [есть и другие функции]

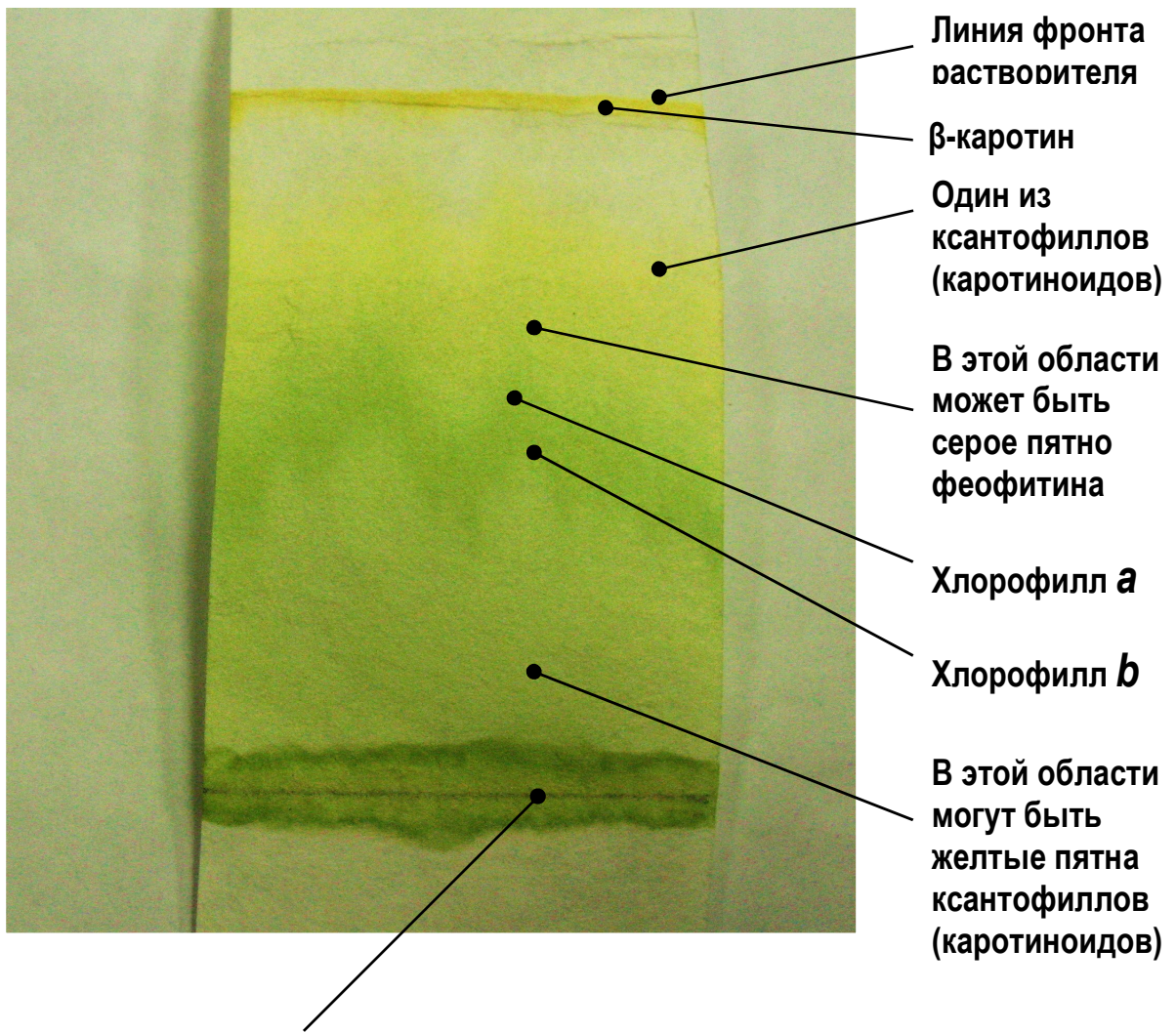
пятно №3 *феофитин* – а) *продукт деградации хлорофилла, образующийся при замене атома Mg на два протона; б) участник электрон-транспортной цепи фотосинтеза (акцептор электрона сразу после P₆₈₀). в) поддержание конформации пигмент-белковых комплексов.*

пятно №4 *хлорофилл a* – а) *пигмент светособирающих и антенных комплексов (улавливание квантов света и миграция энергии); б) преобразует энергию света в энергию движения электронов (образует димеры – реакционные центры P₇₀₀ и P₆₈₀); в) участник электрон-транспортной цепи (в фотосистеме I); г) поддержание конформации пигмент-белковых комплексов.*

пятно №5 *хлорофилл b* – а) *дополнительный пигмент (помогает улавливать свет в более широком диапазоне длин волн); б) поддержание конформации пигмент-белковых комплексов.*

не разделились, но должны присутствовать в вытяжке зеленого листа
в этот раздел школьники могут вписать те пигменты, которые не удалось разделить на их хроматограмме. Например, они не смогли наблюдать пятна феофитина, но знают о нем теоретически. Или если хлорофиллы a и b плохо разделились.

Рис. Типичная хроматограмма пигментов зеленого листа



Линия старта.
 При большом содержании воды в пробе часть пигментов остается прочно связанной с бумагой. Такой же эффект возникает при недостаточном просушивании от спирта после нанесения

ЗООЛОГИЯ ПОЗВОНОЧНЫХ

Мах. 20 баллов. Критерии оценки даны на бланке задания.

МИКРОБИОЛОГИЯ

(макс. 20 баллов)

Из продуктов можно взять кефир, простоквашу, ацидофилин, простоквашу Мечникова...+ свежее молоко

п.10. Можно увидеть морфотипы: бактерии: кокки, диплококки, стрептококки, палочки, цепочки из палочек; эукариоты: дрожжевые почкующиеся клетки. У некоторых бактерий в клетках могут быть видны гранулы запасного вещества (волютина). На препаратах также видны похожие на «пенку», неправильные образования – скоагулировавший белок молока (казеин), на фоне которого четко видны клетки.

п.11. Можно написать реакции молочнокислого и спиртового брожения, указать, что бывает гомо- и гетероферментативное молочнокислое брожение.

п.12. Простокваша Мечникова, курунга, айран, тан, кумыс, йогурт, сметана...

Значение для человека: нормализация кишечной микрофлоры. Витамины. Вспомнить теорию старения И.И. Мечникова.

Смысл сквашивания: снижение pH среды и из-за этого прекращение жизнедеятельности микроорганизмов, например, гнилостных.

Критерии оценок:

1-6. Техника приготовления препаратов – макс 4 балла (за оба)

Приготовление препарата в стерильной зоне горелки/спиртовки 1 балл, если нет – 0
Аккуратное окрашивание мазка (разумное количество красителя и аккуратность при работе с ним 1 балл)

Аккуратное смывание красителя – 0,5 балла

Правильная работа с иммерсионным объективом – 1,5 балла (0,5 – разумный размер капли; 0,5 – погружение объектива в каплю; 0,5 - выбор «удачного» места препарата)

7-8. Работа с микроскопом – 2 балла за оба

Фокусировка изображения – 1 балл

Работа с конденсором и диафрагмой (настройка освещенности) – 1 балл

9. Техника рисунка – 2 балла за оба

Техника рисунка – правильная зарисовка увиденного – 1 балл

Соблюдение масштаба рисунков разных морфотипов – 1 балл

10. Описать морфотипы – по равному количеству баллов за каждый морфотип, общая сумма – 2 балла за оба (в разных продуктах количество морфотипов может быть разным, это должен учесть, сосчитать преподаватель)

Примечание: Пункты 1-10, если задание выполнено только для одного продукта, то, соответственно, можно получить лишь половину баллов.

11. Реакции и pH. Максимум 6 баллов

Реакция гомоферментативного брожения 2 балла

Реакция гетероферментативного брожения – 1 балл

Реакция спиртового брожения – 1 балл

Правильное объяснение реакции с индикатором – 1 балл

Объяснение изменения консистенции молока (коагуляция, створаживание белка при повышении кислотности среды) – 1 балл

12 Продукты – макс 4 балла.

Кисломолочные продукты – 0,5 балла за каждые 3

Объяснение значения сквашивания – 1 балл

Другие продукты – 0,5 балла за каждые 4.