

<b>Место для баллов:</b>
--------------------------

<b>Код:</b>
-------------

**КАБИНЕТ № 2 (30 баллов)****ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ**

**Продолжительность выполнения задания – 1 час 30 минут.**

**ЗАДАНИЕ 1. (14 баллов) Изучение ферментативной активности сока картофеля.**

**Материалы и оборудование:** клубень картофеля, 3% раствор перекиси водорода, 1% раствор гидрохинона, пробирки (6 шт) в штативе, чашка Петри, воронка, пипетки, скальпель (или нож), марлевый отрез, маркер, спиртовка (1 на двоих), зажим-держатель для пробирки.

**Ход работы:**

В процессе онтогенеза растение сталкивается с огромным количеством стрессовых воздействий. Способность к защите от неблагоприятных факторов, а также приспособление к ним является неотъемлемым свойством каждого растительного организма. Одним из механизмов защиты является использование антиоксидантных ферментов, активность которых и будет исследована в настоящей работе.

Изучение ферментативной активности в данной работе будет осуществляться на соке клубня картофеля. Для получения сока картофеля мезгу очищенного клубня очень мелко измельчите (наскоблите) в чашку Петри. Далее, используя марлевый отрез, отожмите из картофеля сок в одну из пробирок. Для дальнейших экспериментов нам понадобится не менее 4 мл сока.

Пронумеруйте четыре пробирки, в каждую добавьте по 5 мл 1% раствора гидрохинона, после чего дополните содержимое пробирок следующими растворами:

- №1 – 1 мл 3% раствора перекиси водорода и 1 мл картофельного сока;
- №2 – 1 мл 3% раствора перекиси водорода;
- №3 – 1 мл картофельного сока;
- №4 – 1 мл 3% раствора перекиси водорода и 1 мл картофельного сока,

но предварительно прокипяченного.

Для кипячения картофельного сока в отдельную пробирку отмерьте 2-3 мл сока. Используя держатель для пробирки равномерно прогрейте всю пробирку – несколько раз медленно проведите ее сквозь пламя от доньшка до отверстия и обратно, после чего прокипятите сам сок в пламени спиртовки в течение 20-30 секунд.

**!Соблюдайте технику безопасности! При работе с огнем спиртовка должна находиться на металлическом подносе. После завершения кипячения не забудьте погасить спиртовку.**

Внимательно проследите за реакциями в пробирках в течение нескольких минут. В Таблице 1 отметьте наблюдаемые изменения окраски растворов либо причины отсутствия изменения. Проанализируйте проделанный вами эксперимент, ответив на представленные под таблицей вопросы.

**Таблица 1 (4 балла, по баллу за ячейку)**

Вариант	Состав смеси в пробирке			Изменение окраски раствора; причина
	Картофельный сок	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Гидрохинон	
1	+	+	+	Побурение раствора; Окисление гидрохинона
2	-	+	+	- ; Отсутствует пероксидаза
3	+	-	+	- ; Отсутствует H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
4	+(после кипячения)	+	+	- ; Инактивация пероксидазы под действием высоких температур

1. Укажите, какой процесс лежит в основе наблюдаемой реакции в пробирке №1, напишите уравнение реакции (реагенты → продукты реакции) (2 балла)

Окисление гидрохинона в хинон, сопровождаемое побурением раствора

Гидрохинон +  $H_2O_2$  → бензохинон (хинон) +  $2H_2O$

2. Какой фермент осуществляет данную реакцию? (1 балл)

Пероксидаза

3. Дефицит какого элемента минерального питания растений будет способствовать значительному снижению активности данного фермента? Почему? (2 балла)

Дефицит железа. Пероксидазы являются железосодержащими ферментами, простетической группой которых является гем – феррипротопорфирин IX. (!информация про простетическую группу не обязательная!)

4. Напишите основные антиоксидантные ферменты (2 балла)

Супероксиддисмутаза (СОД), каталаза и пероксидазы

5. С чем связано побурение картофеля при его нарезании? (3 балла)

Побурение связано с действием полифенолоксидазы, окисляющей полифенолы тканей картофеля с участием молекулярного кислорода

**ЗАДАНИЕ 2. (16 баллов) Изучение ферментативной активности соевой муки.**

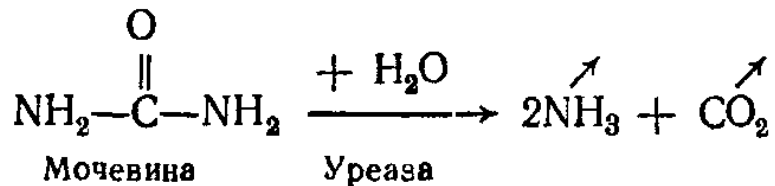
**Материалы и оборудование:** соевая мука, весы, химические стаканы, мерный цилиндр, 0,1 моль/л раствор мочевины, 0,01 моль/л раствор аммиака, 0,1% раствор нейтрального красного, фильтровальная бумага, шприцы, калькулятор.

**Ход работы:**

Ферменты обладают высокой специфичностью, как в отношении катализируемой реакции, так и в отношении субстратов. В настоящее время

ферменты, выделяемые их разнообразных организмов, находят широкое применение в различных областях промышленности. Источником для выделения ферментов чаще всего служат микроорганизмы, однако ферменты можно получать из различных тканей и органов животных и растений. Первым ферментом, выделенном в очищенном виде, была уреаза из соевой муки в 1926 году (Нобелевская премия по химии 1946 год).

Уреаза катализирует гидролиз мочевины с образованием аммиака и углекислого газа:



Исходя из приведенного уравнения, напишите к какому классу ферментов относится уреаза? (1 балл)

Гидролазы

---

Уреаза широко распространена в природе, она обнаружена у многих растений, грибов, бактерий, водорослей. Максимальная концентрация данного фермента обнаружена у растений семейства бобовые. В различных условиях и у разных организмов уреаза выполняет множество разнообразных функций. Данный фермент является фактором патогенности некоторых бактерий, возбудителей болезней человека и животных.

Предположите, какую роль играет данный фермент в растениях? (2 балла)

Позволяет использовать мочевины в качестве источника азота.

---

Участвует в метаболизме аминокислот в прорастающих семенах.

---

В данной работе вам предлагается определить активность уреазы выделенной из соевой муки. Активность уреазы определяется по скорости образования аммиака из растворов, содержащих различные концентрации мочевины, под действием 50 мг препарата фермента, выделенного из растений.

В первый мерный стакан налейте 50 мл воды, во второй стакан 50 мл раствора мочевины с концентрацией 0,1 моль/л, в третий и четвертый стаканы приготовьте растворы мочевины объемом 50 мл с концентрациями 0,01 и 0,001 моль/л. Для этого раствор мочевины с концентрацией 0,1 моль/л разведите в 10 и 100 раз соответственно. Все стаканы подпишите. В каждый стакан добавьте по 2-3 капли раствора нейтрального красного (растворы должны окраситься в розовый цвет).

В каждый из стаканов последовательно добавляем 50 мг препарата уреазы, засекаем время добавления фермента и интенсивно перемешиваем содержимое стаканов. Регистрируем время (в секундах) необходимое для изменения цвета раствора до желто-оранжевого в каждом из вариантов опыта (сравниваем с контрольным образцом без мочевины).

Для расчета максимальной скорости гидролиза мочевины используем метод титрования. Для этого наливаем 50 мл дистиллированной воды в химический стакан и подкрашиваем ее 2-3 каплями раствора нейтрального красного. Затем с помощью шприца по каплям добавляем 0,01 моль/л раствор  $\text{NH}_4\text{OH}$  в стакан с водой до изменения цвета индикатора (не забываем перемешивать раствор в стакане после каждой капли). Определяем количество молей аммиака, пошедшее на титрование. Для этого объем раствора  $\text{NH}_4\text{OH}$ , пошедшего на титрование, умножаем на концентрацию раствора.

Напишите полученное значение концентрации аммиака:

При титровании концентрация аммиака должна получиться примерно

3-8 мкмоль/л

Для расчета скорости гидролиза мочевины используем значение концентрации аммиака, полученное при титровании в молях, и делим на время обесцвечивания раствора в опытных пробирках.

**Нейтральный красный является кислотно-основным индикатором. Повышение концентрации какого вещества в растворе приводит к смещению величины рН и изменению окраски? (2 балла)**

Аммиак (аммоний). Среда становится щелочной ( $\text{pH} > 7$ )

Внесите в таблицу время обесцвечивания раствора и рассчитайте скорость гидролиза мочевины для каждого варианта опыта (6 баллов).

№ пробирки	Концентрация мочевины в среде, моль/л	Время обесцвечивания раствора, сек	Скорость гидролиза мочевины, мкмоль/сек
1	0	Не обесцвечивается	-----
2	0,001	30-60 (1 балл)	0,1 – 0,2 (1 балл)
3	0,01	20-40 (1 балл)	0,14 – 0,4 (1 балл)

4	0,1	15-30 (1 балл)	0,17 – 0,6 (1 балл)
---	-----	----------------	---------------------

**Скорость гидролиза = концентрация аммиака / время обесцвечивания.  
Числа могут изменяться, но сохраняется закономерность.**

Для работы уреазы необходимы ионы  $Ni^{2+}$ . Ниже приведена таблица с различными микроэлементами необходимыми для жизни растений и их функции. Сопоставьте колонку один и два из таблицы и запишите ответ в виде 1Б2Г3А4В5Д (5 баллов).

Микроэлемент	Функции в растении
1. Mn	А. Входит в состав витамина В12 и некоторых окислительно-восстановительных ферментов. Защищает хлорофилл от разрушения в темноте.
2. Mg	Б. Играет важную роль в делении и растяжении клеток меристемы, синтезе нуклеиновых кислот. Участвует в процессе транспорта и обмена углеводов, улучшает обеспечение корней $O_2$ . Влияет на белковый, нуклеиновый, фенольный обмены и созревание семян.
3. В	В. Стабилизирует структуру рибосом, мембран. Входит в состав молекулы хлорофилла. Неспецифичный кофактор многих ферментов, участвующих в дыхании, фотосинтезе, синтезе нуклеиновых кислот.
4. Мо	Г. Принимает участие в фотолизе воды и восстановлении $CO_2$ при фотосинтезе. Увеличивает содержание сахаров и их отток из листьев.
5. Со	Д. Входит в состав нитратредуктазы, участвует в фиксации атмосферного азота, фосфорном обмене, является активатором в реакциях аминирования.

Ответ: 1Г2В3Б4Д5А