

**PRZEWODNIK DO ĆWICZEŃ
Z BIOCHEMICZNO-BIOFIZYCZNYCH PODSTAW
ROZWOJU ROŚLIN**



**LABORATORY WORKSHOP GUIDE
FOR BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL BASIS
OF PLANT DEVELOPMENT**

Antoni Banaś • Katarzyna Jasieniecka-Gazarkiewicz • Kamil Demski

**PRZEWODNIK DO ĆWICZEŃ
Z BIOCHEMICZNO-BIOFIZYCZNYCH PODSTAW
ROZWOJU ROŚLIN**



**LABORATORY WORKSHOP GUIDE
FOR BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL BASIS
OF PLANT DEVELOPMENT**

Wydawnictwo Uniwersytetu Gdańskiego
Gdańsk 2017

Recenzent

dr hab. Iwona Morkunas, prof. nadzw.

Redaktor Wydawnictwa

Dorota Zgaińska

Projekt okładki i stron tytułowych

Filip Sendal

Skład i łamanie

Maksymilian Biniakiewicz

© Copyright by Uniwersytet Gdański
Wydawnictwo Uniwersytetu Gdańskiego

ISBN 978-83-7865-558-9

Wydawnictwo Uniwersytetu Gdańskiego
ul. Armii Krajowej 119/121, 81-824 Sopot
tel./fax 58 523 11 37, tel. 725 991 206
e-mail: wydawnictwo@ug.edu.pl
www.wyd.ug.edu.pl

Księgarnia internetowa: www.kiw.ug.edu.pl

Spis treści/Contents

Przewodnik do ćwiczeń z biochemiczno-biofizycznych podstaw rozwoju roślin

Przedmowa	11
1. Wzrost i rozwój roślin	13
1.1. Wpływ długości dnia i nocy na rozwój roślin (zjawisko fotoperiodyzmu) ..	13
1.2. Wpływ okresu chłodu na rozwój roślin (zjawisko wernalizacji)	14
1.3. Wpływ światła na wzrost roślin	15
1.4. Budowa nasion i typy kiełkowania	15
1.5. Energia i siła kiełkowania nasion	16
1.6. Metody biochemiczne oznaczania żywotności nasion	18
1.7. Przerywanie spoczynku bulw ziemniaka	19
2. Gospodarka wodna I	21
2.1. Pęcznienie nasion żywych i martwych	21
2.2. Wpływ różnych jonów na szybkość pęcznienia nasion	22
2.3. Wydzielanie się ciepła podczas pęcznienia	23
2.4. Komórka Traubego	24
2.5. Plazmoliza i deplazmoliza	25
2.6. Pomiar potencjału osmotycznego tkanek bulwy ziemniaka metodą wagową	26
2.7. Pomiar potencjału osmotycznego komórek cebuli metodą plazmolizy granicznej	28
3. Gospodarka wodna II	29
3.1. Demonstracja siły ssącej transpiracji (mechanizm pasywny pobierania wody)	29
3.2. Demonstracja aktywnego mechanizmu pobierania wody przez rośliny	30
3.3. Obserwacje mikroskopowe komórek epidermy liścia – budowa i ruchy aparatów szparkowych	31
3.4. Obserwacje mikroskopowe tkanek przewodzących wodę w epikotylu siewek grochu lub w szypulce wybranego białego kwiatu	31
3.5. Intensywność transpiracji szparkowej i kutykularnej	32
3.6. Rola ochronna tkanek okrywających przed utratą wody	33
3.7. Pomiar intensywności transpiracji metodą wagową	34

3.8. Przygotowanie preparatów i obserwacja mikroskopowa ścian komórkowych.....	36
4. Fotosynteza	38
4.1. Ekstrakcja barwników fotosyntetycznych	38
4.2. Rozdział barwników fotosyntetycznych.....	39
4.3. Chemiczne właściwości barwników fotosyntetycznych	41
4.4. Fizyczne właściwości barwników fotosyntetycznych	43
4.5. Pomiar zawartości chlorofilu i karotenoidów metodą spektrofotometrii absorpcyjnej	44
4.6. Produkty fotosyntezy w liściach pelargonii i cebuli	45
4.7. Niezbędność dwutlenku węgla dla procesu fotosyntezy	47
4.8. Aktywność dehydrogenazy jabłczanowej zależnej od NADPH w roślinach typu C ₄ i typu C ₃	48
4.9. Przygotowanie preparatów i obserwacja mikroskopowa struktury chloroplastów	50
5. Oddychanie	52
5.1. Oznaczanie współczynnika oddechowego kiełkujących nasion	52
5.2. Wpływ temperatury na intensywność oddychania	53
5.3. Intensywność oddychania suchych, napęczniałych i kiełkujących nasion ..	55
5.4. Mobilizacja materiałów zapasowych w kiełkujących nasionach	56
6. Gospodarka mineralna.....	59
6.1. Pierwiastki występujące w roślinach – analiza popiołu.....	59
6.2. Wykrywanie jonów amonowych w świeżym materiale roślinnym	61
6.3. Wykrywanie azotanów w świeżym materiale roślinnym	62
6.4. Aktywność reduktazy azotanowej w liściach siewek nawożonych i nienawożonych azotanami	63
7. Tłuszczowce roślinne	65
7.1. Ekstrakcja lipidów z różnego materiału roślinnego	65
7.2. Oznaczanie całkowitej zawartości acylo-lipidów w ekstraktach chloroformowych	66
7.3. Analiza zawartości poszczególnych klas lipidów w testowanym materiale roślinnym	68
8. Izolacja organelli komórkowych	71
8.1. Izolacja frakcji mikrosomalnych z materiału roślinnego	71
8.2. Izolacja chloroplastów	72
9. Enzymy związane z metabolizmem tłuszczowców	75
9.1. Określanie aktywności acylotransferaz acylo-CoA:diacyloglicerol (DGAT) we frakcjach mikrosomalnych z różnego materiału roślinnego	75
9.2. Określanie aktywności acylotransferaz acylo-CoA:lizofosfosfatydylocholina (LPCAT) we frakcjach mikrosomalnych z różnego materiału roślinnego	77

9.3. Określanie aktywności lipaz we frakcjach mikrosomalnych z różnego materiału roślinnego	79
---	----

**Laboratory workshop guide
for biochemical and biophysical basis
of plant development**

Foreword	85
1. Growth and development of plants	87
1.1. The effect of day and night length on plant development (photoperiodism)	87
1.2. The impact of a cold period on plant development (the phenomenon of vernalization)	88
1.3. The effect of light on plant growth	89
1.4. Seed structure and types of germination	89
1.5. Germination energy and germination capacity.	90
1.6. Biochemical methods of assessing seed viability	92
1.7. Breaking the dormancy of potato tubers	93
2. Plant–water relations I	95
2.1. Swelling of living and dead seeds	95
2.2. The effect of different ions on seeds' rate of swelling	96
2.3. Heat emission during swelling	97
2.4. Traube cell.	98
2.5. Plasmolysis and deplasmolysis.	99
2.6. Measuring the osmotic potential of a potato tuber with analytical balance . .	100
2.7. Measuring the osmotic potential in onion cells using the incipient plasmolysis method.	101
3. Plant–water relations II	103
3.1. Demonstration of transpiration pull (passive mechanism of water absorption)	103
3.2. Demonstration of the active mechanism of water absorption	104
3.3. Microscopic observation of leaf epidermis cells – the structure and movements of stomata	104
3.4. Microscopic observation of water-conducting tissues of pea epicotyl and the pedicel of a selected white flower	105
3.5. The rate of stomatal and cuticular transpiration	106
3.6. The role of covering tissues in preventing water loss.	107
3.7. The weight method of transpiration measurement	108
3.8. Sample preparation and observation of cell walls under the microscope . .	110
4. Photosynthesis	112
4.1. Extraction of photosynthetic pigments	112
4.2. Photosynthetic pigment separation.	113

4.3. Chemical properties of photosynthetic pigments	115
4.4. Physical properties of photosynthetic pigments	117
4.5. Measuring chlorophyll and carotenoid content with the absorption spectrophotometry method	118
4.6. Products of photosynthesis in geranium and onion leaves	119
4.7. The necessity of carbon dioxide in the process of photosynthesis	121
4.8. The activity of NADPH-dependent malate dehydrogenase in C ₄ and C ₃ plants	122
4.9. Sample preparation and observation of the chloroplast structure under the microscope	124
5. Respiration	126
5.1. Determination of the respiratory quotient of germinating seeds	126
5.2. Effect of the temperature on the intensity of respiration	127
5.3. Intensity of respiration of dry, swollen and germinating seeds	129
5.4. Storage reserves mobilization in the germinating seeds	130
6. Mineral nutrition	133
6.1. Elements present in plants – ash analysis	133
6.2. Detection of ammonium ions in the fresh plant material	135
6.3. Detection of nitrates in the fresh plant material	136
6.4. Activity of nitrate reductase in the leaves of nitrate-fertilized and nitrate-unfertilized seedlings	137
7. Plant lipids	139
7.1. Lipid extraction from different plant materials	139
7.2. Determination of the total lipid content in chloroform extracts	140
7.3. Analysis of the content of individual lipid classes in the tested plant material	141
8. Isolation of cell organelles	145
8.1. Isolation of microsomal fractions from the plant material	145
8.2. Isolation of chloroplasts	146
9. Enzymes of lipid metabolism	149
9.1. Determination of the activity of acyl-CoA:diacylglycerol acyltransferase (DGAT) in microsomal fractions of tested plant material ...	149
9.2. Determination of the activity of acyl-CoA:lysophosphatidylcholine acyltransferase (LPCAT) in microsomal fractions isolated from tested plant material	151
9.3. Determination of the activity of lipases in microsomal fractions of tested plant material	153
Literatura/Literature	156