**ĐỀ CƯƠNG CHI TIẾT BÀI THÍ NGHIỆM / THỰC HÀNH**

**Môn học/học phần: Sinh lý thực vật**

**Bậc (CĐ/ĐH):** Đại học

**Dùng cho ngành**: Lâm học và QLTNR

**Số tiết**: 30 tiết

**Kế hoạch thực hiện:**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **TT** | **Bài thí nghiệm/thực hành** | **Số tiết** | **Khoảng thời gian thực hiện (\*)** |
| 1 | Bài 1: Ảnh hưởng của các ion Kali và Canxi lên độ nhớt của chất nguyên sinh | 5 |  |
| 2 | Bài 2: Tính chất của tế bào sống và chết đối với dịch bào | 5 |  |
| 3 | Bài 3: Xác định áp suất thẩm thấu của tế bào thực vật bằng phương pháp co nguyên sinh | 5 |  |
| 4 | Bài 4: Xác định cường độ thoát hơi nước bằng phương pháp cân nhanh | 5 |  |
| 5 | Bài 5: Quan sát sự đóng mở khí khổng dưới kính hiển vi | 5 |  |
| 6 | Bài 6: Phát hiện các chất khoáng ở thực vật | 5 |  |
| **Cộng** |  | **30** |  |

(\*) Tiết thứ …. - …. trong chương trình môn học/học phần.

**Bài 1: Ảnh hưởng của các ion Kali và Canxi lên độ nhớt của chất nguyên sinh**

1. Đối tượng, hóa chất và dụng cụ thí nghiệm

Củ hành tây; dung dịch KNO3 0,7M và Ca(NO3)2; lưỡi dao cạo, kim mũi mác, kính hiển vi, lam kính và lamen, giấy lọc.

2. Nguyên tắc của phương pháp

Các ion của muối khoáng đều có khả năng ảnh hưởng lên tính chất của hệ keo của chất nguyên sinh, chúng có thể thay đổi độ nhớt (các ion kim loại hóa trị 1 và 2 có tác dụng ngược nhau). Để xác định độ nhớt của chất nguyên sinh ta có thể xác định nhờ thời gian co nguyên sinh của tế bào. Khi độ nhớt tế bào lớn, tế bào tách khỏi thành một cách khó khăn. Vì vậy thời gian co nguyên sinh lõm hơn so với thời gian co nguyên sinh lõm ở những tế bào có độ nhớt thấp, ở tế bào có độ nhớt càng thấp thì quá trình co nguyên sinh xảy ra càng nhanh.

3. Cách tiến hành

Dùng dao hoặc kim mũi mác bóc lớp mỏng tế bào biểu bì hành, cắt miếng nhỏ rồi đặt lên lam kính, nhỏ 1 giọt dung dịch KNO3 1M rồi đậy lamen lại. Quan sát ngay dưới kính hiển vi kết hợp với việc bấm thời gian từ khi chất nguyên sinh tách khỏi tế bào (co nguyên sinh lõm) đến khi chất nguyên sinh tách hoàn toàn khỏi tế bào (co nguyên sinh lồi). Có thể theo dõi nhiều tế bào để lấy thời gian trung bình.

Lặp lại thí nghiệm với dung dịch gây co nguyên sinh là Ca(NO3)2.

Kết quả ghi ở bảng sau:

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Chất gây co nguyên sinh | Thời gian cho vào mẫu dung dịch | Thời gian co nguyên sinh | | |
| Góc | Lõm | Lồi |
| KNO3 |  |  |  |  |
| Ca(NO3)2 |  |  |  |  |

4.Kết luận, nhận xét

- Độ nhớt của chất nguyên sinh là gì?

- Những điều kiện ngoại cảnh nào ảnh hưởng lên độ nhớt?

- Kết luận về sự ảnh hưởng của ion K+ và Ca++ lên độ nhớt của tế bào.

**BÀI 2: Tính chất của tế bào sống và chết đối với dịch bào**

**1. MỤC TIÊU**

Giúp sinh viên làm với việc thực hiện thí nghiệm và củng cố lý thuyết về phần tế bào chất.

**2. YÊU CẦU**

* Bố trí nhóm thực hành tối đa không quá 15 sinh viên/ nhóm/ buổi thực hành.
* Bố trí thời gian 10 tiết/ nhóm/ buổi thực hành.
* Yêu cầu về kết quả: Kết luận được tế bào chất có cho dịch bào đi qua không?

Giải thích được sự nhuôm màu xảy ra ở trong từng ống nghiệm trong quá trình làm thí nghiệm.

**3. NỘI DUNG**

Lấy 4 mảnh biểu bì củ hành tía hoặc là rau dền tím, 4 mảnh như nhau (2cm × 1 cm). Chú ý mẫu càng tươi, sức trương tế bào càng tốt và kết quả càng rõ.

Cho các mảnh trên vào các lỗ của bản sứ. Rửa nhiều lần để hết các dịch màu ứa ra từ mẫu. Lần lượt cho 4 mảnh vào 4 ống nghiệm. Rót nước vào 2 ống nghiệm thứ nhất và thứ hai đến 1/3 ống. Rót vào ống nghiệm thứ 3 cùng một lượng nước như vậy và 5 giọt chloroform. Rót vào ống nghiệm thứ 4 dung dịch axit axetic 30%. Lấy một trong hai ống nghiệm chứa nước, đun sôi trong 1 đến 2 phút, sau đó đổ nước sôi đi và rót nước thường vào. Quan sát sự biến đổi màu của dung dịch trong các ống nghiệm sau 1 – 2 giờ (thỉnh thoảng nhớ lắc đều các ống nghiệm).

Kết quả ghi vào bảng sau:

|  |  |
| --- | --- |
| **Mẫu thí nghiệm** | **Mức độ nhuộm màu của nước** |
| Nước ở nhiệt độ trong phòng |  |
| Nước sau khi đã đun sôi |  |
| Nước và chloroform |  |
| Axit axetic 30% |  |

**4. PHƯƠNG PHÁP, ĐỊA ĐIỂM TỔ CHỨC THỰC HIỆN**

**Phươn**g **pháp:** Tế bào thực vật gồm thành (hoặc vách) tế bào và tế bào chất. Trong tế bào chất có các bào quan như nhân, ty thể, lạp thể, vi thể…Trong tế bào còn có không bào, nơi chứa dịch bào. Tế bào ngày càng già không bào càng lớn. Dịch bào là một dung dịch chứa chất khoáng và hữu cơ, ở một số thực vật, không bào còn chứa các dịch mang các chất có màu như antocyan.

* Thành tế bào có cấu tạo lỗ cực nhỏ, với độ lớn khoảng 10µm, do đó các chất hòa tan có thể qua lại một cách tự do. Còn màng sinh chất mang tính bán thấm, có nghĩa là nước có thể qua lại tự do và dễ dàng, còn các chất tan khác rất khó khăn đi qua.
* **Địa điểm: Phòng thí nghiệm sinh học**

**5**. **DỤNG CỤ THIẾT BỊ THỰC HÀNH/HIỆN TRƯỜNG**

Củ hành tía hoặc rau dền tím, pipet, axit axetic 30%, giá 4 ống nghiệm, cloroform, cốc thủy tinh, bản sứ có lỗ giếng, đèn cồn, ống nhỏ giọt, diêm.

**6. HÌNH THỨC KIỂM TRA, ĐÁNH GIÁ**

- Nộp báo cáo/thu hoạch

- Kiểm tra:

+ Sử dụng làm điểm kiểm tra thường xuyên/định kỳ

+ Hình thức kiểm tra: Kiểm tra trực tiếp khi lam thí nghiệm

---------oOo---------

**Bài 3: Xác định áp suất thẩm thấu của tế bào thực vật bằng phương pháp co nguyên sinh**

1. Đối tượng, hóa chất và dụng cụ thí nghiệm

Củ hành, lá thài lài tía, lá ngọc lan; Dung dịch NaCl 1M hoặc xacaroza 1M, nước cất hoặc nước đun sôi để nguội; Lưỡi dao cạo, kim mũi mác, ống nhỏ giọt, đĩa đồng hồ, đũa thủy tinh, giá ống nghiệm, ống nghiệm, kính hiển vi, giấy lọc, nhiệt kế, lam kính, lamen.

2. Nguyên tắc của phương pháp

Áp suất thẩm thấu là áp lực kéo nước vào trong tế bào qua màng tế bào.

Áp suất thẩm thấu phụ thuộc vào nồng độ dung dịch, nhiệt độ, sự điện li của dung dịch và được tính theo công thức.

Π\*= RTCi

Π\*: áp suất thẩm thấu

R: là hằng số khí R = 0,0821

C: nồng độ dung dịch

T: nhiệt độ tuyệt đối T = 2730 + t

i: hệ số đẳng trương i = 1 +α(n-1)

n: số ion phân ly

α: hằng số điện li

Giá trị i đối với NaCl như sau:

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Nồng độ NaCl(M) | 1 | 0,8 | 0,7 | 0,6 | 0,5 | 0,4 | 0,3 | 0,2 | 0,1 | 0,01 |
| Hệ số đẳng trương i | 1,62 | 1,64 | 1,66 | 1,68 | 1,70 | 1,73 | 1,75 | 1,78 | 1,83 | 1,93 |

Phương pháp xác định áp suất thẩm thấu bằng co nguyên sinh dựa trên cơ sở sau: Ngâm các tế bào trong dãy dung dịch có nồng độ đã biết (dung dịch NaCl 0,1M; 0,2M; 0,3M…1M) sau đó lấy ra quan sát dưới kính hiển vi (co nguyên sinh chỉ xảy ra trong điều kiện ưu trương và với 50% lượng tế bào co nguyên sinh là đủ, lần lượt quan sát từ nồng độ thấp lên nồng độ cao). Tìm nồng độ ưu trương nhỏ nhất (nồng độ bắt đầu xảy ra co nguyên sinh). Nồng độ dung dịch đẳng trương có giá trị nằm giữa khoảng của nồng độ ưu trương nhỏ nhất với nồng độ nhược trương lớn nhất. Xác định được nồng độ dung dịch đẳng trương tức nồng độ dung dịch bằng nồng độ dịch bào (Cdd= Ctb)

3. Cách tiến hành

- Chuẩn bị:

+ Dung dịch NaCl có nồng độ từ 0,1M; 0,2M…1M.

+ Đĩa đồng hồ hoặc đĩa petri có đựng nước đun sôi, để nguội.

+ 10 ống nghiệm cho lên giá.

- Lần lượt nhỏ vào mỗi ống nghiệm 1ml dung dịch NaCl có nồng độ dung dịch tương ứng là 0,1M; 0,2M…1M, sau đó cắt khoảng 20 mảnh tế bào vẩy hành (thài lài tía, ngọc lan) cho toàn bộ vào đĩa đồng hồ có đựng nước đun sôi để nguội. Khi ngâm trong nước dịch bào ở những tế bào bị tổn thương sẽ chảy ra ngoài, sau vài phút gắp các mảnh ra, để trên giấy lọc và thấm khô rồi cho vào các ống nghiệm (cứ mỗi ống hai mảnh) từ nồng độ thấp đến cao, các mảnh vẩy hành không được nổi trên mặt.

- Sau 15 – 20 phút lần lượt lấy các mảnh vẩy hành ở các ống nghiệm ra quan sát dưới kính hiển vi (nếu tiêu bản khô cho thêm giọt dung dịch tương ứng). Sau mỗi lần dùng kẹp hoặc đũa thủy tinh để lấy mẫu đều phải rửa sạch bằng nước cất mới cho dung dịch khác. Tìm ra ở nồng độ dung dịch nào tế bào bắt đầu co nguyên sinh thì thôi.

- Chú ý: Trong các nghiên cứu chính xác, người ta thường xác định 2 bước:

+ Bước 1: Tìm nồng độ đẳng trương ở các dung dịch có nồng độ cách nhau 0,1M.

+ Bước 2: Tìm nồng độ đẳng trương ở các dung dịch có nồng độ cách nhau 0,02M.

4. Kết luận, nhận xét.

Kết quả ghi trong bảng

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Đối tượng | Nồng độ bắt đàu co NS | Nồng độ dịch bào (Ctb) | Π\* (atm) | Ghi chú |
| 1 |  |  |  |  |
| 2 |  |  |  |  |
| 3 |  |  |  |  |

So sánh sự khác nhau về ASTT giữa các đối tượng, giải thích.

Làm thí nghiệm ở 3 thời điểm khác nhau trong buổi, lập biểu đồ biểu diễn sự biến đổi ASTT theo thời gian trong buổi (đầu, cuối, giữa). Nhận xét kết quả

**BÀI 4: Xác định cường độ thoát hơi nước bằng phương pháp cân nhanh**

**1. MỤC TIÊU**

Giúp học sinh thành thạo trong việc bố trí thí nghiệm và xác định được cường độ thoát hơi nước của cây từ đó có thể tự tìm ra biện pháp cung cấp đủ nước cho cây.

**2. YÊU CẦU**

* Bố trí nhóm thực hành tối đa không quá 15 sinh viên/ nhóm/ buổi thực hành.
* Bố trí thời gian 10 tiết/ nhóm/ buổi thực hành.

- Yêu cầu về kết quả: Tính được cường độ thoát hơi nước của các đối tượng cây khác nhau ở các thời điểm trong ngày. Nhận xét kết quả và giải thích sự khác nhau về cường độ thoát hơi nước giữa các đối tượng qua các thời điểm khác nhau.

Lập biểu đồ biểu diễn đối với mỗi đối tượng qua các thời điểm khác nhau trong ngày.

**3. NỘI DUNG**

Có thể xác định cường độ thoát hơi nước bằng cách tính sự biến đổi trọng lượng của lá thoát khỏi cành sau một thời gian rồi tính ra đơn vị diện tích lá là dm2 lá trong một giờ. Trước khi thí nghiệm đo nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng. Dùng kéo hoặc dao sắc cắt cành có lá của cây định nghiên cứu (không nên lấy cành có ít lá quá và nếu lá có nước thì phải lau khô).

Cắt cành: uốn cành trong cốc (hoặc chậu thủy tinh) đã định nước sẵn sao cho phần định cắt ngập trong nước, dùng dao (kéo) cắt nhanh cành trong cốc nước để không làm ngưng dòng nước liên tục hút vào cây, sau đó đem cân ta được trọng lượng P0. Sau đó để lá thoát hơi nước ở những điều kiện khác nhau (nhiệt độ, ánh sáng, gió)

Chuẩn bị cân kỹ thuật (cân điện tử): Sau chỉnh cân về vị trí thăng bằng va để cân ổn định.

Lấy lá về đặt lên bàn cân để cân ngay (lấy khoảng 5 đến 10 lá tùy loại to, nhỏ, bỏ cuống lá). Ghi trọng lượng cân lần đầu.

Để các lá cây ra ngoài chậu thoát hơi nước, sau thời gian 3 phút cân lại, ghi kết quả lần sau.

Gọi kết quả cân lần đầu là P0, kết quả cân lần sau là Pt, diện tích lá là S thì:

* Lượng nước thoát đi sau 2 lần cân là P0 - Pt
* Lượng nước mất đi sau mỗi phút là (P0 - Pt)/t

Theo công thức thì có thể viết công thức tính cường độ thoát hơi nước như sau: 

Cách tính diện tích lá:

- Phương pháp cân nhanh: Đặt toàn bộ các lá đã cân lên tờ giấy (giấy bọc sinh hoặc giấy báo có độ dày như nhau ở mọi vị trí). Dùng bút vẽ lại hình dạng các lá trên giấy, lấy dao hoặc kéo cắt theo đường vừa vẽ ta được toàn bộ lá giấy có diện tích tương đương diện tích lá cây. Sau đó cho lên cân toàn bộ các lá giấy và cân 1dm2 cũng giấy đó:

+ Gọi trọng lượng toàn bộ các lá giấy đã cân là a gam

+ Gọi trọng lượng 1dm2 giấy là b gam

Ta có diện tích lá là S = a/b

Sử dụng máy đo diện tích lá.

Cuối cùng, cường độ thoát hơi nước sẽ là:

 (g/dm2/h)

**4. PHƯƠNG PHÁP, ĐỊA ĐIỂM TỔ CHỨC THỰC HIỆN**

**Phươn**g **pháp:** Thoát hơi nước là một quá trình sinh lý quan trọng. Đó là động cơ tận cùng phía trên thúc đẩy quá trình hút nước vào cây qua hệ rễ. Nó làm giảm nhiệt độ của lá khi bị đốt nóng. Theo một số tác giả thì thoát hơi nước tạo ra một độ thiếu bão hòa nước nhất định, làm cho các quá trình trao đổi chất tiến hành mạnh mẽ. Có hai con đường thoát hơi nước:

* Thoát hơi nước qua khí khổng (ở những cây trưởng thành)
* Thoát hơi nước qua lớp cutin (ở những cây non).

Thoát hơi nước qua khí khổng gồm 3 giai đoạn:

* Bốc hơi nước từ bề mặt của tế bào nhu mô lá và gian bào.
* Sự khuếch tán hơi nước qua khí khổng
* Sự chuyển động cảu hơi nước từ bề mặt lá ra khí quyển xung quanh
* Tuy có những mặt có lợi như đã nói ở trên, nhưng thoát hơi nước cũng gây nhiều thiệt hại cho cây khi cây mất một lượng nước lớn qua quá trình này. Vì vậy, trong thực tiễn cũng cần biết cường độ thoát hơi nước của mỗi loại cây. Cường độ thoát hơi nước là lượng nước thoát ra từ lá được tính bằng gam trên 1dm2 lá trong một giờ.
* **Địa điểm: Vườn thực vật (Ngoài hiện trường nơi có thực vật)**

**5**. **DỤNG CỤ THIẾT BỊ THỰC HÀNH/HIỆN TRƯỜNG**

Cây định nghiên cứu; Cân kỹ thuật chính xác tới 0,01 g; Bông không thấm nước; Kéo hoặc dao sắc; Đồng hồ bấm dây; Thước kẻ; Nhiệt kế.

**6. HÌNH THỨC KIỂM TRA, ĐÁNH GIÁ**

- Nộp báo cáo/thu hoạch

- Kiểm tra:

+ Sử dụng làm điểm kiểm tra thường xuyên/định kỳ

+ Hình thức kiểm tra: Kiểm tra tại nơi làm thí nghiệm.

Bài 5: Quan sát sự đóng mở khí khổng dưới kính hiển vi

1. Đối tượng, hóa chất và dụng cụ thí nghiệm

Lá thài lài tía; kính hiển vi; lam kính và lamen; dung dịch glyxerin 5% và 15%; cốc có nước; lưỡi dao cạo; đũa thủy tinh; kim mũi mác; giấy lọc.

2. Nguyên tắc của phương pháp

Sự trao đổi khí với môi trường được thực hiện ở lá nhờ các khí khổng. Mỗi khí khổng được cấu tạo từ hai tế bào nối với nhau ở hai đầu, có thành trong dày, thành ngoài mỏng. Do cấu tạo thành ngoài và thành trong không giống nhau nên khi thay đổi sức trương nước của tế bào khí khổng có thể mở rộng hoặc đóng một cách chủ động hoặc bị động.

3. Cách thức tiến hành

Bóc biểu bì phía dưới của lá thài lài tía và đặt lên lam kính. Nhỏ 1 giọt glyxerin 5% lên rồi quan sát sự đóng mở khí khổng dưới kính hiển vi. Vì vào không bào và làm cho nồng độ dịch tăng lên. Khi nồng độ dịch bào lớn hơn nồng độ dung dịch bên ngoài thì tế bào lại hút nước vào và khí khổng lại mở dần ra. Khí khổng mở càng to nếu ta làm loãng glyxerin bằng giọt nước cho vào mép tấm lamen và dùng giấy thấm bớt glyxerin ở mép đối diện. Tiếp theo, nếu ta muốn khí khổng đóng lại thì thay lại dung dịch trên bằng glyxerin 15%. Thao tác như trên.

4. Kết luận

1. Quan sát sự đóng, mở của khí khổng. Giải thích hiện tượng đó?

2. Trình bày quay luật biến đổi của khí khổng trong ngày, giải thích quy luật đó?

3. Làm thí nghiệm với 2 đối tượng

Bài 6: Phát hiện các chất khoáng ở thực vật

1. Đối tượng, hóa chất và dụng cụ thí nghiệm

- Tàn thuốc lá hoặc tro đốt từ lá

- Dung dịch H2SO4 1%, dung dịch Na2PbCu(NO2)6, dung dịch Na2HPO4 1%, dung dịch K4Fe(CN)6.

- Nước cất, lam kính, lamen, kính hiển vi, giấy lọc, phễu, ống nghiệm.

2. Nguyên tắc của phương pháp

Dùng các phản ứng tạo thành màu hoặc tinh thể đặc trưng cảu một số nguyên tố khoáng với các hóa chất đặc hiệu để nhận biết các nguyên tố khoáng trong cây.

3. Cách tiến hành

Đốt cháy thực vật để lấy tro. Cho vào ống nghiệm 1 phần tro thực vật và 4 phần HCl 10% lắc đều, rồi lọc bằng giấy lọc ta được dung dịch tro thực vật. Cho lên lam kính 1 giọt dung dịch mẫu và 1 giọt thuốc thử. Dùng một sợi tóc nối hai giọt đó lại và quan sát ở chỗ giao nhau của hai dung dịch.

3.1. Tìm canxi

Dùng H2SO4 10% làm thuốc thử



CaSO4 có kết tủa bó hình kim hoặc sao vô sắc

3.2. Tìm Kali

Dùng muối phức Na2PbCu(NO2)6



Tinh thể K2PbCu(NO2)6 có hình đa giác màu tối, đen, màu xẫm.

3.3. Tìm magie

Dùng muối photphat axit natri và trung hòa dung dịch tro bằng NH3



Tinh thể  tạo thành hình khối chữ nhật, nắp hộp, chữ nhật

3.4. Phát hiện sắt

Dùng dung dịch ferroxyanua kali 1%



4. Kết luận, nhận xét

Làm thí nghiệm tìm các chất khoáng và vẽ lại dạng tinh thể quan sát được

*Đồng Nai, ngày 26 tháng 2 năm 2015*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **TRƯỞNG BAN** | **TỔ BỘ MÔN** | **Người biên soạn** |
|  |  |  |