

**13 Δεκεμβρίου 2014**

Όνοματεπώνυμο μαθητών ομάδας	Όνομασία σχολείου
1.	
2.	
3.	

### Εισαγωγή – Θεωρητικό μέρος

Τα σπέρματα των φυτών που περιέχουν το γονιμοποιημένο ωάριο, όταν βρεθούν σε κατάλληλο περιβάλλον (σκοτάδι, υγρασία, κατάλληλη θερμοκρασία, κ.α.) εξελίσσονται σε φυτικά έμβρυα. Ειδικότερα, το φυτικό έμβρυο της **φακής** (*Lens culinaris*, φακός ο μαγειρικός) διασφαλίζει την απαραίτητη ενέργεια από τους αποθηκευμένους **υδατάνθρακες** που περιέχονται στις **κοτυληδόνες** του σπέρματος, μέχρι να αναπτύξει το υπέργειο τμήμα με τα φύλλα τα οποία θα φωτοσυνθέτουν, μέσω των χλωροπλαστών. Σε κάθε κύτταρο, φυτικό ή ζωικό, διάφορες ουσίες, κυρίως η **γλυκόζη**, οξειδώνονται, αποδίδοντας σταδιακά χημική ενέργεια, μέσω μιας διαδικασίας που ονομάζεται **κυτταρική αναπνοή**. Η διαδικασία λαμβάνει χώρα σε εξειδικευμένα οργανίδια, τα μιτοχόνδρια.



Σκοπός της εργαστηριακής άσκησης είναι η μελέτη της κυτταρικής αναπνοής σε βλαστώνοντα σπέρματα φακής με τη βοήθεια κατάλληλης διάταξης, καθώς και η μικροσκοπική παρατήρηση μέρους των σπερμάτων φακής για την ανίχνευση μορίων που σχετίζονται με την κυτταρική αναπνοή. Η αντίδραση διάσπασης της γλυκόζης ( $C_6H_{12}O_6$ ) - που απελευθερώνει ενέργεια με τη μορφή μορίων ATP- περιγράφεται συνοπτικά με την παρακάτω χημική εξίσωση:



Με βάση την αντίδραση αυτή, μπορούμε να παρατηρήσουμε ότι ο προσδιορισμός του ρυθμού της αναπνοής μπορεί να γίνει με διάφορους τρόπους, όπως:

- α.** με τη μέτρηση του ποσού της γλυκόζης ( $C_6H_{12}O_6$ ) που χρησιμοποιείται, ή επίσης
- β.** με τη μέτρηση του όγκου του οξυγόνου ( $O_2$ ) που καταναλώνεται, ή ακόμα
- γ.** με τη μέτρηση του όγκου του διοξειδίου του άνθρακα ( $CO_2$ ) που παράγεται.

Στο πείραμά μας, θα προσδιορίσουμε το ρυθμό της αναπνοής με βάση τον **όγκο του  $O_2$  που καταναλώνεται**. Επειδή το  $CO_2$  που παράγεται κατά την κυτταρική αναπνοή, ως αέρια ουσία, θα επηρεάσει τη σωστή εκτίμηση των αποτελεσμάτων που θα λάβουμε με τη διάταξη που θα συναρμολογήσουμε, θα το δεσμεύσουμε με τη βοήθεια υδροξειδίου του καλίου ή νατρίου ( $KOH$  ή  $NaOH$ ). Το ανθρακικό κάλιο ή νάτριο ( $K_2CO_3$  ή  $Na_2CO_3$ ), που θα παράγεται από τη χημική αντίδραση του  $CO_2$  με το  $KOH$  ή  $NaOH$ , δε θα επηρεάζει τους αέριους όγκους που μεταβάλλονται κατά την κυτταρική αναπνοή, διότι είναι στερεό.

## Πειραματικό μέρος 1<sup>ο</sup> – Μελέτη κυτταρικής αναπνοής σε σπέρματα φακής

### Απαιτούμενα υλικά

Διάταξη μελέτης κυτταρικής αναπνοής (σύριγγα 10 mL, σύριγγα 1 mL, σωληνάκι σιλικόνης), διαβρεγμένα σπέρματα φακής, ξηρά σπέρματα φακής, χάντρες, βαμβάκι, διάλυμα  $KOH$  ή  $NaOH$ , γυάλινο δοχείο με νερό, γάντια μιας χρήσης, ρολόι-χρονόμετρο.

### Α΄ Δραστηριότητα: Συναρμολόγηση διάταξης για τη μελέτη κυτταρικής αναπνοής

Για να εκτιμήσουμε τον όγκο του οξυγόνου που καταναλώνεται κατά την κυτταρική αναπνοή συναρμολογούμε τη διάταξη, όπως φαίνεται στις ακόλουθες εικόνες:

**Βήμα 1.** Κόβουμε ένα τμήμα, μήκους 1,5 cm, από το σωληνάκι σιλικόνης και το εφαρμόζουμε στο στόμιο της σύριγγας των 10 mL.



**Βήμα 2.** Αφαιρούμε το έμβολο από τη σύριγγα του 1 mL και στη συνέχεια την προσαρμόζουμε στη διάταξη που φτιάξαμε στο βήμα 1. Ελέγχουμε τη σύνδεση, ώστε να είναι σταθερή.



**Βήμα 3.** Ομοίως, συναρμολογούμε άλλες δύο τέτοιες διατάξεις.

**Βήμα 4.** Στην πρώτη διάταξη, αφαιρούμε το έμβολο της μεγάλης σύριγγας και προσθέτουμε 45 μπίλιες. Στη συνέχεια, κόβουμε και προσθέτουμε ένα στεγνό κομματάκι βαμβάκι στη σύριγγα. Έπειτα, διαβρέχουμε με διάλυμα  $KOH$  ή  $NaOH$  ένα άλλο κομματάκι βαμβάκι και **ΜΕ ΛΑΒΙΔΑ** το μεταφέρουμε στη σύριγγα. Τέλος, τοποθετούμε το έμβολο.

Επαναλαμβάνουμε τη διαδικασία, προσθέτοντας στη δεύτερη διάταξη 50 διαβρεγμένα σπέρματα φακής (μουλιασμένα σε νερό).

Στην τρίτη διάταξη, προσθέτουμε 50 ξηρά σπέρματα φακής, συμπληρώνοντας με μπίλιες, ώστε να κατέχουν τον ίδιο όγκο στη σύριγγα όλες οι διατάξεις.

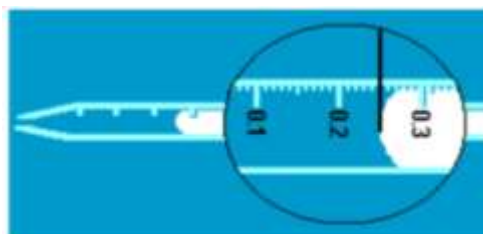
**ΠΡΟΣΟΧΗ: Αποφεύγουμε κάθε επαφή του  $KOH$  ή  $NaOH$  με το δέρμα, διότι είναι πολύ καυστικό! Χρησιμοποιούμε τα γάντια!**

**Βήμα 5.** Μετά τη συναρμολόγηση βυθίζουμε τις τρεις διατάξεις σε δοχείο όπου έχουμε προσθέσει νερό (σε όγκο που φτάνει το 1/3 του δοχείου). Προκειμένου να παραμείνουν βυθισμένα καθόλη τη διάρκεια του πειράματος, τοποθετούμε επάνω τους το βαρύ αντικείμενο που υπάρχει στον πάγκο εργασίας με τον τρόπο αυτό, δεν εισέρχεται επιπλέον ατμοσφαιρικός αέρας.

**Βήμα 6.** Μετακινώντας προσεκτικά το έμβολο, ρυθμίζουμε το επίπεδο του νερού μέσα στη διάταξη, μέχρι να έρθει ο μηνίσκος στην πρώτη γραμμή της σύριγγας, δηλαδή στο μηδέν (0).

**Πριν προχωρήσετε στις μετρήσεις, καλέστε τον επιβλέποντα καθηγητή σας!**

Οι μετρήσεις θα γίνονται ανά 5 λεπτά μέχρι συνολικού χρόνου 25 λεπτών στη διάταξη που βρίσκεται στο νερό, με ανάγνωση της ένδειξης στην οποία έχει φτάσει κάθε φορά ο μηνίσκος του νερού στη σύριγγα του 1 mL, ως αποτέλεσμα της κατανάλωσης του οξυγόνου. Να λάβετε υπόψη ότι το 100 της σύριγγας αντιστοιχεί στο 1 mL, άρα το 10 στο 0,1 mL, το 20 στο 0,2 mL, το 30 στο 0,3 mL κ.ο.κ., όπως φαίνεται στη διπλανή εικόνα.



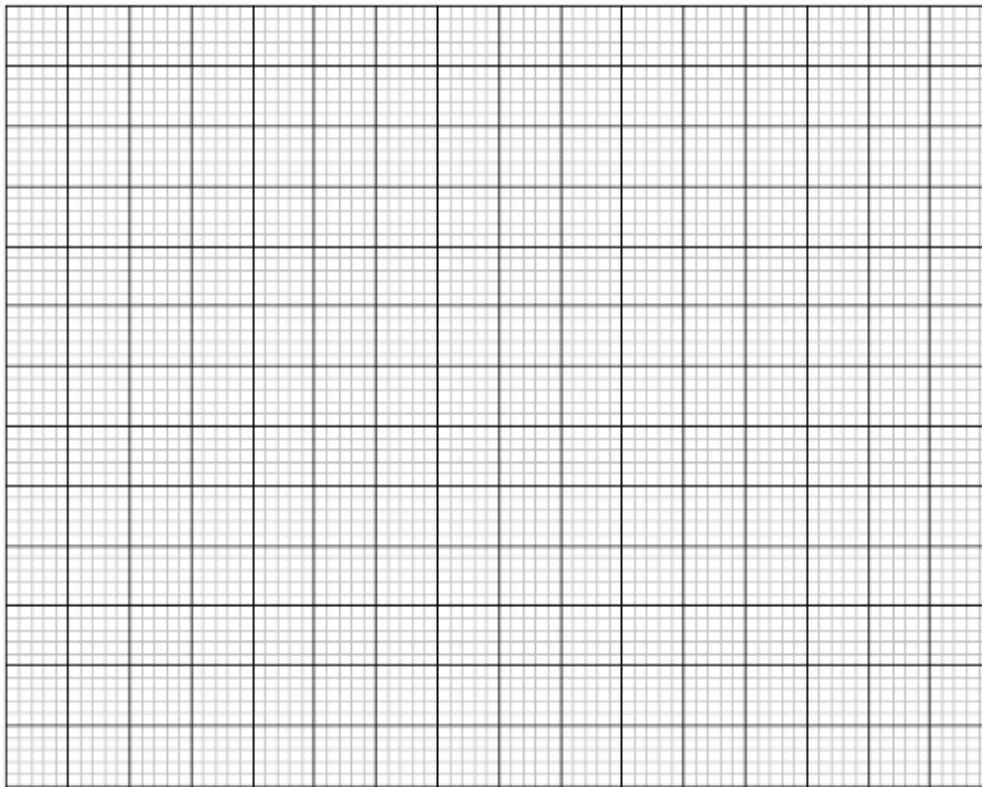
### **Β' Δραστηριότητα: Πίνακας μετρήσεων**

Συμπληρώνουμε τον ακόλουθο πίνακα με βάση τις πειραματικές μετρήσεις που παρατηρήσαμε.

	Χρόνος (min)					
	0	5	10	15	20	25
<b>Διαβρεγμένα σπέρματα</b> Ένδειξη διάταξης, δηλ. Όγκος O <sub>2</sub> που καταναλώθηκε (mL)						
<b>Ξηρά σπέρματα</b> Ένδειξη διάταξης, δηλ. Όγκος O <sub>2</sub> που καταναλώθηκε (mL)						

### **Γ' Δραστηριότητα: Σχεδιασμός γραφικής παράστασης**

Κατασκευάζουμε τα διαγράμματα όγκου του O<sub>2</sub> που καταναλώθηκε, ως συνάρτηση του χρόνου που διήρκησε το πείραμα, με βάση τις μετρήσεις μας. Χαρακτηρίζουμε κατάλληλα τους άξονες και επιλέγουμε κατάλληλη κλίμακα. Σημειώνουμε τις μετρήσεις που αφορούν τόσο τα διαβρεγμένα όσο και τα ξηρά σπέρματα, στο ίδιο σύστημα αξόνων. Τέλος, ενώνουμε τα διαδοχικά σημεία.



**Δ΄ Δραστηριότητα: Υπολογισμός Ρυθμού Αναπνοής (PA)**

Στη συνέχεια προσδιορίζουμε το ρυθμό της αναπνοής (ρυθμό κατανάλωσης O<sub>2</sub>) ανά πεντάλεπτο, δηλαδή για τα πέντε πρώτα λεπτά, έπειτα για τα επόμενα πέντε κ.ο.κ., χρησιμοποιώντας την παρακάτω μαθηματική έκφραση:

$$PA = \frac{\Delta V}{\Delta t} = \frac{V_{\text{τελ.}} - V_{\text{αρχ.}}}{t_{\text{τελ.}} - t_{\text{αρχ.}}}, \text{ όπου } V = \text{όγκος O}_2 \text{ και } t = \text{χρόνος}$$

Αφού υπολογίσουμε και το **μέσο ρυθμό αναπνοής**, συμπληρώνουμε τον πίνακα με τις τιμές και τις μονάδες μέτρησης των μεγεθών:

Δt	Διαβρεγμένα σπέρματα			Ξηρά σπέρματα		
	ΔV	PA	μέσος PA	ΔV	PA	μέσος PA
0-5						
5-10						
10-15						
15-20						
20-25						

## Πειραματικό μέρος 2<sup>ο</sup> – Μικροσκοπική παρατήρηση σε σπέρματα φακής

### Απαιτούμενα υλικά

Στον πάγκο εργασίας υπάρχουν οπτικό μικροσκόπιο, κασετίνα εργαλείων μικροσκοπίου, αντικειμενοφόρες πλάκες και καλυπτρίδες, δοχείο ζέσης, υδροβολέας, χρώση Lugol. Η ανίχνευση του αμύλου γίνεται με τη χρήση Lugol, που είναι υδατικό διάλυμα ιωδιούχου καλίου και στοιχειακό ιώδιο και βάφει το παρασκεύασμα με ιώδες χρώμα.

### Ε΄ Δραστηριότητα: Μελέτη, παρατήρηση και απεικόνιση παρασκευάσματος.

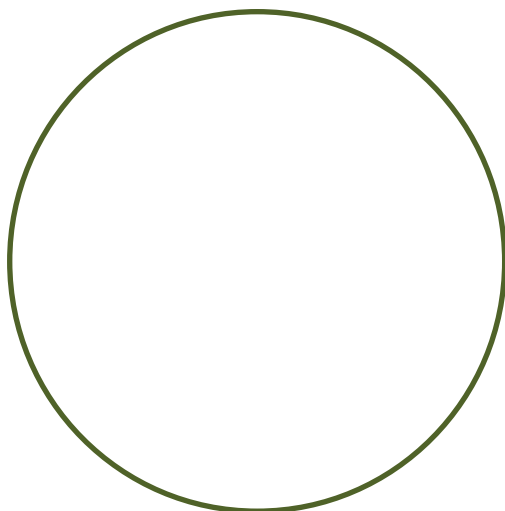
Στο τέλος της παρατήρησης κάθε παρασκευάσματος, ζητήστε από τον υπεύθυνο να ελέγξει το παρασκεύασμά σας!

1. Σε ένα διαβρεγμένο σπέρμα διαχωρίζουμε τις κοτυληδόνες με το νυστέρι.
2. Ετοιμάζουμε δύο μικροσκοπικά παρασκευάσματα, ξύνοντας ελαφρά την επιφάνεια μιας κοτυληδόνας με κατάλληλο εργαλείο.
3. Στο ένα προσθέτουμε Lugol και το παρατηρούμε στο μικροσκόπιο.
4. Παρατηρούμε το δεύτερο παρασκεύασμα στο μικροσκόπιο, χωρίς να προσθέσουμε χρωστική.
5. Απεικονίζουμε το δεύτερο παρασκεύασμα. Δεν ξεχνάμε να βάλουμε με βελάκια κατάλληλες ενδείξεις και επιλέγουμε τη βέλτιστη μεγέθυνση.



### Απεικόνιση μικροσκοπικού παρασκευάσματος

Μεγέθυνση: .....



## Ερωτήσεις ανάλυσης και κατανόησης της εργαστηριακής άσκησης

1. Αυξημένη κυτταρική αναπνοή παρατηρείται

- α. στα ξηρά σπέρματα φακής
- β. στα διαβρεγμένα σπέρματα φακής
- γ. και στα ξηρά και στα διαβρεγμένα σπέρματα φακής
- δ. στο δείγμα του μάρτυρα με τις μπίλιες

2. Η ουσία που ανιχνεύεται στις κοτυληδόνες είναι ..... και εξυπηρετεί .....

- α. άμυλο ... τη συντήρηση των σπερμάτων σε ληθαργική μορφή, πριν τη φύτευση
- β. οξυγόνο ... τη φωτοσύνθεση
- γ. νερό ... τη διαδικασία διαπνοής
- δ. άμυλο ... τις ενεργειακές ανάγκες της φύτευσης

3. Σύμφωνα με το πείραμα, η παρουσία οξυγόνου αποτελεί την αναγκαία και ικανή συνθήκη για την ενεργοποίηση των σπερμάτων.

**Σωστά**, διότι .....

**Λάθος**, διότι .....

4. Γιατί τοποθετούμε στη σύριγγα στεγνό βαμβάκι πριν τοποθετήσουμε το ποτισμένο με διάλυμα ΚΟΗ ή ΝαΟΗ βαμβάκι;

.....  
.....

5. Ποια μορφή έχουν τα διαγράμματα που κατασκευάσατε; Πως μεταβάλλεται ο ρυθμός αναπνοής που υπολογίσατε (αυξάνεται, μειώνεται, παραμένει σταθερός); Δώστε μια εξήγηση.

.....  
.....  
.....  
.....  
.....  
.....

## Βιβλιογραφία

- Βιολογία Α' Γυμνασίου, ΟΕΔΒ, 2008
- Βιολογία Β' Λυκείου, ΟΕΔΒ, 2013
- [http://www.phschool.com/science/biology\\_place/labbench/lab5/design.html](http://www.phschool.com/science/biology_place/labbench/lab5/design.html)
- <http://www.aua.gr/fasseas/kefalaio8.pdf>

## Αξιολόγηση της άσκησης

<b>Πειραματικό μέρος 1<sup>ο</sup> (44μ)</b>			
<b>Α' Δραστηριότητα - Συναρμολόγηση διάταξης</b>	<b>8μ</b>		
τοποθέτηση σιλικόνης στη μεγάλη σύριγγα		1μ	E
σταθεροποίηση σύνδεσης δύο συριγγών		1μ	E
τοποθέτηση βαρύ αντικειμένου επάνω μεγάλες σύριγγες		1μ	E
μετακίνηση εμβόλου ώστε αρχική ένδειξη μικρής σύριγγας -> μηδέν		2μ	E
τήρηση χρόνου στη λήψη μετρήσεων		2μ	E
ό,τι άλλο κρίνει ο παρατηρητής		1μ	E
<b>Β' Δραστηριότητα - Συμπλήρωση δεδομένων στον πίνακα μετρήσεων</b>	<b>10μ</b>		E
<b>Γ' Δραστηριότητα - Σχεδίαση δύο γραφημάτων πειράματος</b>	<b>14μ</b>		
χαρακτηρισμός αξόνων		2μ	
επιλογή κλίμακας αξόνων		2μ	
σχεδίαση σημείων και δημιουργία δύο γραφημάτων		10μ	
<b>Δ' Δραστηριότητα: Υπολογισμός ρυθμού αναπνοής (PA)</b>	<b>12μ</b>		
υπολογισμός PA για κάθε πεντέλεπτο σε διαβρεγμένα σπέρματα		5μ	
υπολογισμός PA για κάθε πεντέλεπτο σε ξηρά σπέρματα		5μ	
υπολογισμός μέσης τιμής PA σε διαβρεγμένα και σε ξηρά σπέρματα		2μ	
<b>Πειραματικό μέρος 2<sup>ο</sup> (30μ)</b>			
<b>Ε' Δραστηριότητα - Πειραματική διαδικασία μικρ/κού παρασκευάσματος</b>	<b>30μ</b>		
χρώση Lugol σε ένα από τα δύο		2μ	E
απουσία φυσαλίδων και στα δύο		4μ	E
κατάλληλη μεγέθυνση (στο 100x ->αφαίρεση των 4 μ)		4μ	E
καθαρό, αραιό, πλήρες οπτικό πεδίο		9μ	E
απεικόνιση (ένδειξη, μεγέθυνση, σωστή μεταφορά οπτικού πεδίου)		10μ	E
ό,τι άλλο κρίνει ο παρατηρητής		1μ	E
<b>Ερωτήσεις ανάλυσης και κατανόησης (26μ)</b>	<b>26μ</b>		
ερώτηση 1		4μ	
ερώτηση 2		4μ	
ερώτηση 3		5μ	
ερώτηση 4		5μ	
ερώτηση 5		8μ	