

آزمایشگاه آموزشی
بیست و دومین المپیاد
زیست‌شناسی ایران

فیزیولوژی گیاهی

سلولی. اسمولاریته. رنگیزه‌ها.

روز پنجم
۹۸/۴/۷

اهداف آزمایش:

۱. ادامه کار با میکروسکوپ و تمرین مهارت‌های سلولی آزمایشگاه گیاهی
۲. یادگیری نحوه تعیین کیفی اسمولاریته
۳. آشنایی بیشتر با رنگیزه‌های فتوسنتزی

زمان آزمایش: ۹۰ دقیقه



این فایل به منظور آموزش عملی دانش پژوهان المپیاد زیست‌شناسی ایران گردآوری شده است.

میدان دید میکروسکوپ | اندازه‌گیری طول سلول با میکروسکوپ | تعیین اسمولاریته محلول‌ها | بررسی خواص فیزیکی و شیمیایی رنگدانه‌های فتوسنتزی

- زمان را مدیریت کنید تا فرصت کنید تمام بخش‌ها را انجام دهید!
- از مواد و وسایل خود به درستی استفاده کنید. به هیچ وجه مواد یا وسایل اضافه به شما داده نخواهد شد.

لیست مواد و وسایل

- | | |
|----------------------------------|---------------------------|
| ۱. محلول ۱ تا ۳ | ۱۱. لاک |
| ۲. عصاره گیاهی (محلول در اتانول) | ۱۲. برگ X و Y |
| ۳. ویال 20% KOH | ۱۳. لوله‌های شماره ۱ تا ۳ |
| ۴. ویال اترنفت ۲ عدد | ۱۴. پیست آب مقطر |
| ۵. ویال HCl | ۱۵. میکروسکوپ |
| ۶. پلیت شماره ۱ تا ۳ | ۱۶. یک تکه پیاز |
| ۷. پیپت پاستور ۴ عدد | ۱۷. خط‌کش |
| ۸. لام ۴ عدد | ۱۸. دستکش |
| ۹. لامل ۴ عدد | ۱۹. ماشین حساب |
| ۱۰. پنس | |

میدان دید میکروسکوپ

در این بخش نحوه محاسبه مساحت میدان دید میکروسکوپ و مقایسه تعداد روزنه های اپیدرم فوقانی و تحتانی دو گیاه را خواهید آموخت.

محاسبه مساحت میدان دید میکروسکوپ

یک خط کش در اختیار شما قرار داده شده است. آن را مانند لام، زیر میکروسکوپ قرار دهید.

سوال ۱.۱: با استفاده از خط کش، قطر میدان دید را در حالت 4X و 10X حساب کنید(به میلی متر)

قطر میدان دید (4X)	قطر میدان دید (10X)

یکی از راه های بدست آوردن قطر میدان دید، استفاده از فرمول زیر است:

$$\text{قطر میدان دید} = \frac{\text{قطر عدسی چشمی}}{\text{شدت بزرگنمایی}}$$

قطر عدسی چشمی میکروسکوپ شما ۱۸ میلی متر است. پس باید قطر میدان دید در بزرگنمایی 4X و 10X و 40X به ترتیب ۴.۵ میلی متر، ۱.۸ میلی متر و ۴۵۰ میکرومتر باشد.

سوال ۱.۲: مساحت میدان دید در حالت 40X چند میلی متر مربع است؟ (تا سه رقم اعشار)

مقایسه تراکم روزنه ای اپیدرم فوقانی و تحتانی دو گیاه

یک برگ از هر کدام از گیاهان X و Y در اختیار شما قرار گرفته است.

۱. روی سطح فوقانی و تحتانی برگ هر دو گیاه مقداری لاک بکشید.

۲. صبر کنید تا لاک خشک شود(می توانید بخش های دیگر را بررسی کنید).

۳. لاک را از سطح برگ جدا کنید. می توانید اثر برگ را تا حدودی تشخیص دهید.

۴. آن را روی لام قرار داده و با بزرگنمایی 40X مشاهده کنید.

سوال ۱.۳: تعداد روزنه ها را در ۳ محل مختلف و پرتراکم هر کدام از اپیدرم های فوقانی و تحتانی هر دو گیاه بشمارید و در جدول زیر وارد کنید.

اپیدرم فوقانی گیاه X	اپیدرم تحتانی گیاه X	اپیدرم فوقانی گیاه Y	اپیدرم تحتانی گیاه Y

سوال ۱.۴: تراکم روزنه ای را برای هر کدام از موارد زیر تا دو رقم اعشار محاسبه کنید (تعداد روزنه بر میلی متر مربع).

اپیدرم فوقانی گیاه X	اپیدرم تحتانی گیاه X	اپیدرم فوقانی گیاه Y	اپیدرم تحتانی گیاه Y

سوال ۱.۵: با توجه به داده های فوق، جدول زیر را برای تعداد روزنه ها در بزرگنمایی 40X کامل کنید (تا سه رقم اعشار)

اپیدرم فوقانی گیاه X	اپیدرم تحتانی گیاه X	اپیدرم فوقانی گیاه Y	اپیدرم تحتانی گیاه Y	
				میانگین
				انحراف معیار

$$s_p = \sqrt{\frac{(n_1 - 1) s_{X_1}^2 + (n_2 - 1) s_{X_2}^2}{n_1 + n_2 - 2}} \quad t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{s_p \cdot \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}}$$

سوال ۱.۶: با توجه به فرمول های فوق و داده های بالا، جدول زیر را کامل کنید. (تا سه رقم اعشار)

اپیدرم فوقانی و تحتانی گیاه X	اپیدرم فوقانی و تحتانی گیاه Y	
		عدد t محاسبه شده
		درجه آزادی

سوال 1.7: آیا تفاوت میان تعداد روزنه های اپیدرم فوقانی و تحتانی گیاهان X و Y معنادار است؟ (خطای آلفا را 0.1 در نظر بگیرید)

	اپیدرم فوقانی و تحتانی گیاه X
	اپیدرم فوقانی و تحتانی گیاه Y

سوال 1.8: با توجه پاسخ سوال 1.7، تعیین کنید که هرکدام از گیاهان X و Y تک لپه هستند یا دولپه؟

Y	X	
		تک لپه/دولپه

اندازه‌گیری طول سلول با میکروسکوپ

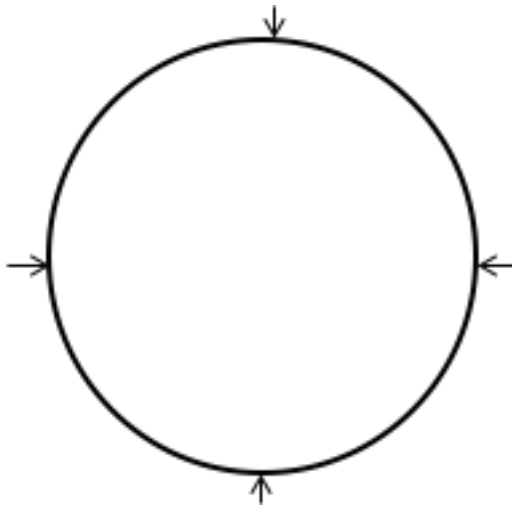
در این بخش نحوه آدرس دهی در میدان دید میکروسکوپ و اندازه‌گیری طول و عرض سلول ها را خواهید آموخت.

آدرس دادن در میدان دید میکروسکوپ!

فرض کنید شکل روبرو میدان دید میکروسکوپ با بزرگنمایی 4X نشان می دهد.

در این حالت اگر میدان دید را یک ساعت فرض کنیم، به فلش بالایی موقعیت ساعت ۱۲، به فلش پایینی موقعیت ساعت ۶ و به همین ترتیب به فلش راست و چپ به ترتیب موقعیت ساعت ۳ و ۹ می گویند.

به طور مثال وقتی شما می خواهید از بین سلول های مختلف در میدان دید میکروسکوپ به یکی از آن ها اشاره کنید، با استفاده از این واژه ها می توانید به راحتی محل آن سلول در میدان دید را به فرد مقابل بفهمانید.



اندازه‌گیری مساحت سلول های اپیدرمی پیاز

به شما یک تکه پیاز داده شده است.

۱. با کمک پنس، مقداری از اپیدرم زیرین را جدا کنید. آن را روی یک لام قرار داده و مقداری آب روی آن بریزید (سعی کنید اپیدرم را به صورت افقی یا عمودی قرار دهید تا کارتان راحت تر شود) و روی آن را با لامل بپوشانید.

۲. میکروسکوپ را روی بزرگنمایی 40X قرار دهید.

۳. برای محاسبه طول یا عرض یک سلول، به طور مثال یک سمت آن را روی موقعیت ساعت ۱۲ قرار دهید و عدد کولیس عمودی را بخوانید. سپس سمت دیگر آن را روی موقعیت ساعت ۱۲ قرار داده و دوباره عدد کولیس عمودی را بخوانید. اختلاف این دو عدد، طول (عرض) سلول را نشان می دهد. (در صورت داشتن مشکل، از مسئول مربوطه کمک بگیرید.)

سوال ۲۰۱: طول و عرض و مساحت تخمینی ۳ سلول اپیدرمی را محاسبه کرده و در جدول زیر بنویسید.

طول (میکرومتر)			
عرض (میکرومتر)			
مساحت تخمینی (میکرومتر مربع)			

تعیین اسمولاریته محلول‌ها

در این بخش شما با مشاهده سلول‌های اپیدرمی در محلول‌های مختلف، اسمولاریته آن‌ها را نسبت به اسمولاریته سلول‌های اپیدرمی مشخص می‌کنید.

- سه تکه اپیدرم را از پیاز جدا کرده و در پلیت‌های ۱ تا ۳ قرار دهید.
- ۱۰ میلی‌لیتر از هر کدام از محلول‌های ۱ تا ۳ را در پلیت‌های هم نام خود بریزید.
- حداقل ۱۰ دقیقه صبر کنید (در این زمان به بررسی بخش‌های دیگر بپردازید).
- هر کدام از نمونه‌ها را روی لام قرار داده دهید و مقداری از همان محلولی که نمونه را از آن برداشته‌اید، روی نمونه بریزید. لامل را روی نمونه قرار دهید.
- سلول‌های اپیدرمی را از لحاظ اندازه و حالت (تورژسانس و پلاسمولیز و ...) بررسی کنید.

سوال ۳.۱: با توجه به نتایج، هر کدام از محلول‌های ۱ و ۲ و ۳ را از لحاظ اسمولاریته با اپیدرم برگ پیاز مقایسه کنید.

۳	۲	۱	
			هیپو/ایزو/هیپراسموتیک

بررسی خواص فیزیکی و شیمیایی رنگدانه‌های فتوسنتزی

تبدیل انرژی نورانی به انرژی شیمیایی در گیاهان، با کمک کمپلکس‌های پروتئینی-رنگدانه‌ای موجود در غشای کلروپلاست صورت می‌گیرد. این کمپلکس‌ها شامل رنگیزه‌های فتوسنتزی نیز می‌شوند که فعالیت فتوسنتزی را مشخص می‌کنند. شناخت فتوسنتز بدون شناختن خواص رنگیزه‌های فتوسنتزی غیرممکن است. کلروفیل‌ها و دیگر رنگیزه‌های فتوسنتزی، خواص به خصوصی دارند: جذب طول موج‌های مختلف نور، توانایی شرکت در واکنش‌های ردوکس، حلالیت در حلال‌های مختلف و ...

شما در این بخش به بررسی چند تا از خواص این رنگیزه‌ها خواهید پرداخت.

۱. ۳ میلی لیتر عصاره گیاهی را به لوله شماره ۱ و همچنین لوله شماره ۲ انتقال دهید.
۲. پنج قطره ۲۰٪ KOH و ۱ میلی لیتر آب را به لوله شماره ۱ و ۱ میلی لیتر آب به لوله شماره ۲ انتقال دهید.

سوال ۴.۱: واکنش زیر در حال انجام در لوله شماره ۱ است. با توجه به مشاهدات خود، آن را کامل کنید (از شماره‌های متناظر با فرمول‌های شیمیایی زیر استفاده کنید)



1. $\text{C}_{55}\text{H}_{72}\text{O}_5\text{N}_4\text{Mg}$ – chlorophyll.
2. $\text{C}_{34}\text{H}_{30}\text{O}_5\text{N}_4\text{MgK}_2$ – potassium salt of the chlorophyllic acid.
3. $\text{C}_{55}\text{H}_{74}\text{O}_5\text{N}_4$ – pheophytin (phaeophytin).
4. $\text{C}_{20}\text{H}_{39}\text{OH}$ – phytol.
5. CH_3OH – methanol.
6. $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ – ethanol.
7. MgCl_2 – magnesium chloride.
8. KCl – potassium chloride.

۳. ۱ میلی لیتر اترنفت به لوله‌های شماره ۱ و ۲ اضافه کنید و به خوبی هم بزنید. سپس منتظر بمانید تا فازها کاملاً از هم جدا شوند.

سوال ۴.۲: رنگ‌های دو فاز لوله‌های شماره ۱ و ۲ را در جدول زیر بنویسید. (از بین گزینه‌ها انتخاب کنید)

شماره لوله	فاز اتانول	فاز اترنفت
۱		
۲		

الف): بنفش ب): آبی ج): سبز د): زرد ه): قرمز و): قهوه‌ای زیتونی ز): سیاه ط): بی‌رنگ

سوال ۴.۳: کدام رنگیزه ها مسئول رنگ فاز اترنفت در لوله های شماره ۱ و ۲ هستند؟ (از بین گزینه ها انتخاب کنید)

لوله شماره ۱	
لوله شماره ۲	

الف): آنتوسیانین ها ب): کارتنوئید ها ج): فیکوبیلین ها د): کلروفیل ها

۴. ۳ میلی لیتر عصاره گیاهی را به لوله شماره ۳ انتقال دهید. در آن ۵ قطره HCL بریزید. محتویات لوله را به خوبی هم بزنید.

سوال ۴.۴: محتویات لوله شماره ۳ پس از اضافه کردن اسید، به چه رنگی در آمد؟ (از بین گزینه ها انتخاب کنید)

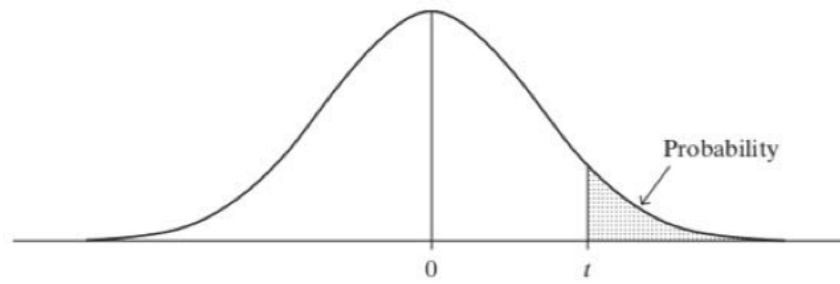
الف): بنفش ب): آبی ج): سبز د): زرد ه): قرمز و): قهوه ای زیتونی ز): سیاه ط): بی رنگ

سوال ۴.۵: واکنش زیر مربوط به لوله شماره ۳ است. آن را کامل کنید (از شماره های متناظر با فرمول های شیمیایی زیر استفاده کنید)



1. $C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$ – chlorophyll.
2. $C_{34}H_{30}O_5N_4 MgK_2$ – potassium salt of the chlorophylllic acid.
3. $C_{55}H_{74}O_5N_4$ – pheophytin (phaeophytin).
4. $C_{20}H_{39}OH$ – phytol.
5. CH_3OH – methanol.
6. C_2H_5OH – ethanol.
7. $MgCl_2$ – magnesium chloride.
8. KCl – potassium chloride.

TABLE B: *t* Distribution Critical Values



<i>df</i>	Confidence Level					
	80%	90%	95%	98%	99%	99.8%
	Right-Tail Probability					
	<i>t</i> _{.100}	<i>t</i> _{.050}	<i>t</i> _{.025}	<i>t</i> _{.010}	<i>t</i> _{.005}	<i>t</i> _{.001}
1	3.078	6.314	12.706	31.821	63.656	318.289
2	1.886	2.920	4.303	6.965	9.925	22.328
3	1.638	2.353	3.182	4.541	5.841	10.214
4	1.533	2.132	2.776	3.747	4.604	7.173
5	1.476	2.015	2.571	3.365	4.032	5.894
6	1.440	1.943	2.447	3.143	3.707	5.208
7	1.415	1.895	2.365	2.998	3.499	4.785
8	1.397	1.860	2.306	2.896	3.355	4.501
9	1.383	1.833	2.262	2.821	3.250	4.297
10	1.372	1.812	2.228	2.764	3.169	4.144
11	1.363	1.796	2.201	2.718	3.106	4.025
12	1.356	1.782	2.179	2.681	3.055	3.930
13	1.350	1.771	2.160	2.650	3.012	3.852
14	1.345	1.761	2.145	2.624	2.977	3.787
15	1.341	1.753	2.131	2.602	2.947	3.733
16	1.337	1.746	2.120	2.583	2.921	3.686
17	1.333	1.740	2.110	2.567	2.898	3.646
18	1.330	1.734	2.101	2.552	2.878	3.611
19	1.328	1.729	2.093	2.539	2.861	3.579
20	1.325	1.725	2.086	2.528	2.845	3.552
21	1.323	1.721	2.080	2.518	2.831	3.527
22	1.321	1.717	2.074	2.508	2.819	3.505
23	1.319	1.714	2.069	2.500	2.807	3.485
24	1.318	1.711	2.064	2.492	2.797	3.467
25	1.316	1.708	2.060	2.485	2.787	3.450
26	1.315	1.706	2.056	2.479	2.779	3.435
27	1.314	1.703	2.052	2.473	2.771	3.421
28	1.313	1.701	2.048	2.467	2.763	3.408
29	1.311	1.699	2.045	2.462	2.756	3.396
30	1.310	1.697	2.042	2.457	2.750	3.385
40	1.303	1.684	2.021	2.423	2.704	3.307
50	1.299	1.676	2.009	2.403	2.678	3.261
60	1.296	1.671	2.000	2.390	2.660	3.232
80	1.292	1.664	1.990	2.374	2.639	3.195
100	1.290	1.660	1.984	2.364	2.626	3.174
∞	1.282	1.645	1.960	2.326	2.576	3.091

Source: "Table of Percentage Points of the *t*-Distribution." Computed by Maxine Merrington, *Biometrika*, 32 (1941): 300. Reproduced by permission of the *Biometrika* trustees.