آزمایشگاه آموزشی
بیست‌ودومین المپیاد
زیست‌شناسی ایران

فیزیولوژی گیاهی

سلولی. اسمولاریته. رنگیزه‌ها. (کلید)

روز پنجم
۹۸/۴/۷

کلید | توضیحات تکمیلی

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

کلید

سوال ۱.۱:

قطر میدان دید (10X)	قطر میدان دید (4X)
۴.۵ تا ۵ میلی متر(با توجه به قطر عدسی چشمی میکروسکوپ مورد استفاده)	۱.۸ تا ۲ میلی متر(با توجه به قطر عدسی چشمی میکروسکوپ مورد استفاده)

سوال ۱.۲:

۰.۱۵۹

سوال ۱.۳:

اپیدرم فوقانی گیاه X	اپیدرم تحتانی گیاه X	اپیدرم فوقانی گیاه Y	اپیدرم تحتانی گیاه Y
۰	۱۰ - ۴۰	۲۰ - ۴۰	۲۰ - ۴۰

سوال ۱.۴ :

اپیدرم فوقانی گیاه X	اپیدرم تحتانی گیاه X	اپیدرم فوقانی گیاه Y	اپیدرم تحتانی گیاه Y
۰	۱۲۰ - ۱۸۰	۱۵۰ - ۲۰۰	۱۵۰ - ۲۰۰

سوال ۱.۵:

با توجه به دیتای سوال ۱.۳ . یک مثال در زیر آمده است:

اپیدرم فوقانی گیاه X	اپیدرم تحتانی گیاه X	اپیدرم فوقانی گیاه Y	اپیدرم تحتانی گیاه Y
۰	۲۰	۲۹	۳۲
۰	۴۰	۳۶	۴۷
۰	۲۰	۳۳	۳۶

در نتیجه

	اپیدرم فوقانی گیاه X	اپیدرم تحتانی گیاه X	اپیدرم فوقانی گیاه Y	اپیدرم تحتانی گیاه Y
میانگین	۰.۰۰۰	۲۶.۶۶۷	۳۲.۶۶۷	۳۸.۳۳۳
انحراف معیار	۰.۰۰۰	۱۱.۵۴۷	۳.۵۱۲	۷.۷۶۷

سوال ۱.۶:

	اپیدرم فوقانی و تحتانی گیاه X	اپیدرم فوقانی و تحتانی گیاه Y
عدد t محاسبه شده	۴.۰۰۰- (مثبت ۴ هم صحیح است)	۱.۱۵۱- (مثبت ۰۱.۱۵ هم صحیح است)
درجه آزادی	۴	۴

سوال ۱.۷:

اپیدرم فوقانی و تحتانی گیاه X	بله (معنادار)
اپیدرم فوقانی و تحتانی گیاه Y	خیر (غیرمعنادار)

سوال ۱.۸:

	X	Y
تک لپه/دولپه	دولپه	تک‌لپه

سوال ۲.۱:

طول(میکرومتر)	۲۰۰ - ۶۰۰
عرض(میکرومتر)	۵۰ - ۲۰۰
مساحت تخمینی (میکرومتر مربع)	۲۰۰۰۰ - ۸۰۰۰۰

سوال ۳.۱: با توجه به نتایج، هر کدام از محلول های ۱ و ۲ و۳ را از لحاظ اسمولاریته با اپیدرم برگ پیاز مقایسه کنید.

	۱	۲	۳
هیپو/ایزو/هیپراسموتیک	ایزواسموتیک / هیپراسموتیک	هیپواسموتیک	هیپراسموتیک

سوال ۴.۱:

$$\boxed{1} + \boxed{KOH} + \boxed{H_2O} \longrightarrow \boxed{2} + \boxed{4} + \boxed{5}$$

سوال ۴.۲:

شماره لوله	فاز اتانول	فاز اتر نفت
۱	ج	د
۲	ج	ج

سوال ۴.۳:

لوله شماره ۱	ب
لوله شماره ۲	د

سوال ۴.۴:

و

سوال ۴.۵:

$$\boxed{1} + \boxed{HCl} \longrightarrow \boxed{3} + \boxed{7}$$

توضیحات تکمیلی

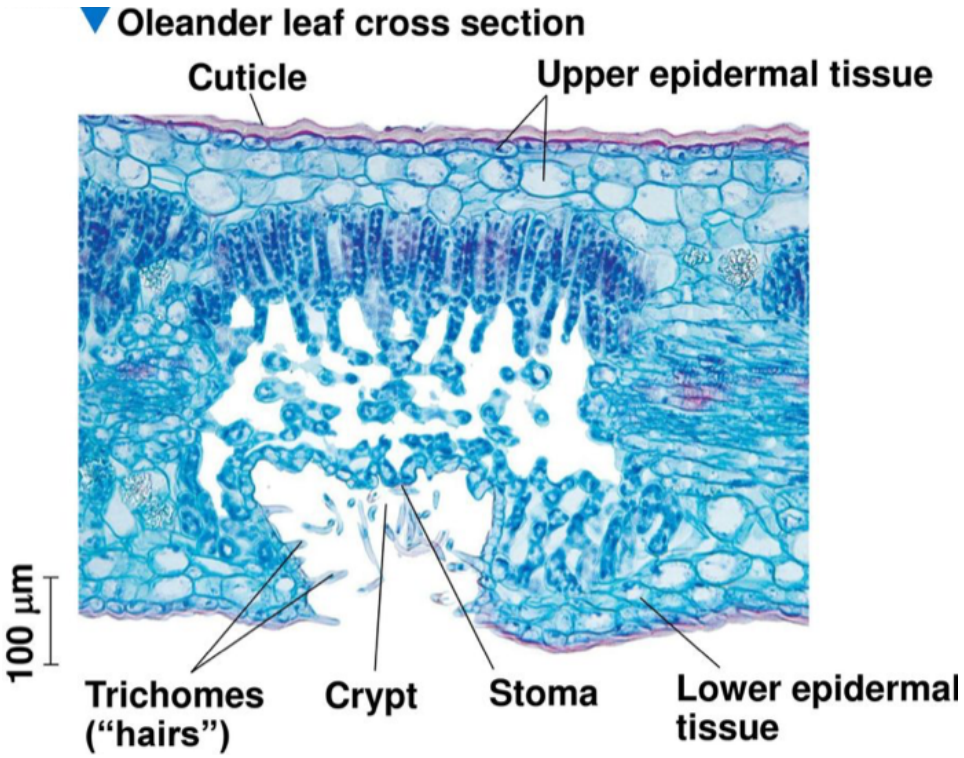
میدان دید میکروسکوپ

محاسبه مساحت میدان دید

برای به دست آوردن مساحت میدان دید، شعاع میدان دید را به توان دو رسانده و در عدد پی ضرب می کنیم (فرمول مساحت دایره)

مقایسه تراکم روزنه ای اپیدرم فوقانی و تحتانی دو گیاه

نمونه X مربوط به خرزهره است که گیاهی گزروفیت است. پس همان طور که انتظار می رود، در اپیدرم فوقانی آن روزنه ای مشاهده نمی شود و تنها کرک ها و غده ها قابل مشاهده اند. در اپیدرم تحتانی، کریپت (فرورفتگی های غارمانند) ها مشاهده می شوند. هنگام برگزاری تسک، چون نمی توانستیم تعداد روزنه ها را تخمین بزنیم، هر کریپت را حاوی ۱۰ روزنه در نظرگرفتیم(دلیل این که در کلید، داده ها ۲۰- ۳۰- ۴۰ هستند). در حالی که برای بدست آودن تراکم روزنه ای لازم است گیاهی انتخاب شود که دارای روزنه های روی سطح اپیدرم باشد. شکل زیر برش عرضی برگ خرزهره را نشان می دهد.



نمونه Y مربوط به گیاهی از تیره Poaceae یا گندمیان است که به علت تک لپه و علفی بودنش، انتظار داریم که روزنه های اپیدرم بالایی و پایینی نسبتا یکسان باشند(البته ممکن است مقداری تعداد روزنه های اپیدرم تحتانی بیشتر باشد). روزنه های این گیاه به صورت موازی با هم هستند. برای تشخیص دادن سطح فوقانی و تحتانی برگ، می توانید به رگبرگ میانی توجه کنید. در سطح تحتانی، رگبرگ میانی کمی برآمده است.

برای لاک کشیدن، باید حواستان باشد که برگ ها کاملا خشک باشند. همچنین مقدار زیادی لاک نکشید. زیرا زمان زیادی برا خشک شدن لازم خواهد داشت. همچنین تا زمانی که لاک کاملا خشک نشده است، فشاری به آن وارد نکنید.

برای محاسبه تراکم روزنه ای کافی است میانگین تعداد روزنه(داده های جدول سوال ۱.۴) را بر مساحت میدان دید (۰.۰۱۵۹ میلی متر مربع) تقسیم کنید.

نکته خیلی مهم: د ر صورتی که در متن سوال تعداد ارقام اعشار را مشخص کند، شما در هر صورت باید تمام اعداد را تا سه رقم اعشار گرد کنید و بنویسید. به طور مثال اگر عدد شما ۴.۰۰۰۰۵۴۹۳ بدست آمده است، باید ۴.۰۰۰ را وارد کنید. حتی اگر عدد شما دقیقا ۴ در آمد، باز هم باید ۴.۰۰۰ را وارد کنید. (البته اگر داده ای مثل درجه ازادی نمی‌توانست اعشاری باشد، طبیعی است که شما نیازی به وارد کردن اعشار ندارید)

درجه آزادی در two sample t test با واریانس مشابه(فرمول ارائه شده در سوال) برابر است با جمع داده های دو دسته منهای ۲.

همانطور که می دانید، به صورت خیلی خیلی کلی!، تعداد روزنه های دو سطح برگ تک لپه ها برابر است. همچنین در دولپه ها، تعداد روزنه های سطح تحتانی بیشتر از سطح فوقانی است. پس اگر اختلاف روزنه های دو سطح برگ معنادار باشد، می توان آن را دولپه در نظر گرفت.

اندازه‌گیری طول سلول با میکروسکوپ

اندازه‌گیری مساحت سلول های اپیدرمی پیاز

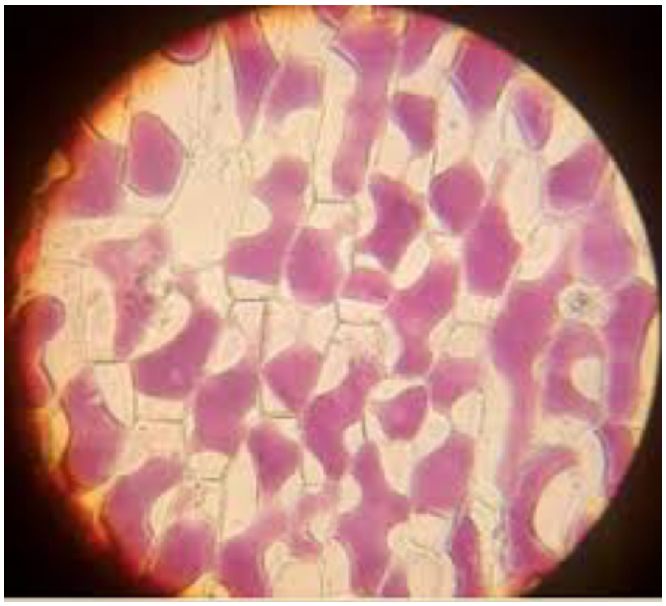
اگر سلول های شما به صورت عمودی یا افقی نبودند، می توانید قبل از گذاشتن لامل روی نمونه، آن را چک کنید و طوری قرار دهید که عمودی یا افقی باشد. همچنین می توانید با کمک فیثاغورس، طول آن را بدست آوردید. مثلا اگر هنگام حرکت میدان دید از یک سمت سلول به سمت دیگر، کولیس عمودی ۳۰۰ میکرولیتر و کولیس افقی ۴۰۰ میکرولیتر حرکت کردند، طول سلول ۵۰۰ میکرولیتر خواهد بود.

اگر طول یا عرض سلول از دقت میکروسکوپ کمتر بود، دو راه دارید: ۱. طول آن را به صورت تقریبی با توجه به قطر میدان دید بنویسید. مثلا اگر قطر میدان دید ۵۰۰ میکرومتر است و عرض سلول به صورت چشمی یک بیستم قطر میدان دید است، پس طول سلول ۲۵ میکرومتر است. ۲. عرض چند سلول را با هم اندازه گرفته و بر تعداد تقسیم کنید. به طور مثال عرض ۱۰ سلول که تقریبا هم اندازه اند، ۳۰۰ میکرولیتر است. پس عرض یک سلول ۳۰ میکرولیتر خواهد بود. دقت کنید که هر دو روش خطا دارند و به هیچ عنوان دقیق نیستند.

تعیین اسمولاریته محلول‌ها

محلول ۱، یک محلول ۲۰۰۰ میلی اسمولار بود(NaCl یک مولار). پس نسبت به سلول هیپراسموتیک است. پس آب از سلول ها خارج شده و شهد پلاسمولیز سلول ها هستیم. پلاسمولیز باعث کوچک شدن سلول ها و همچنین جدا شدن غشای سلول از دیواره سلولی می شود.به شکل زیر توجه کنید. قسمت های قرمز رنگ، داخل سلول هستند. نمونه های داده شده به شما، فاقد رنگ بودند. پس شما باید در فضای سلولی، حباب های فراوانی مشاهده می کردید (مانند شکل روبه‌رو).

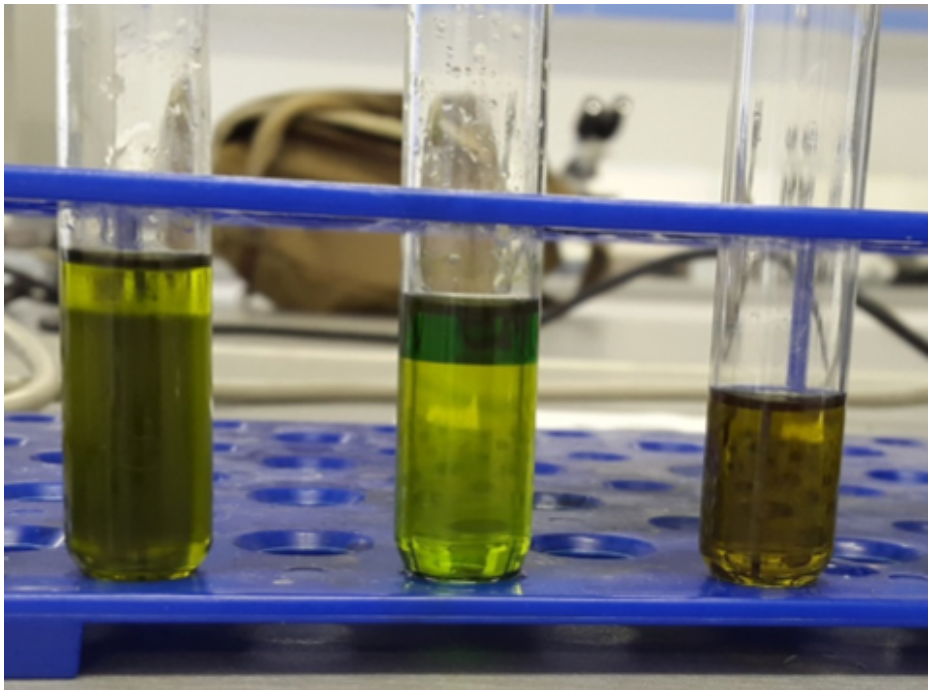
محلول ۲، آب مقطر بود. پس نسبت به سلول هیپواسموتیک است. پس شاهد تورژسانس خواهیم بود.



محلول ۳، یک محلول ۴۰۰ میلی اسمولار بود(۰.۲ NaCl مولار). پس نسبت به سلول کمی هیپراسموتیک است. پس ممکن است در صورت انکوباسیون طولانی مدت، مقداری پلاسمولیز نیز ببینم اما محلول ممکن است رفتار یک محلول ایزواسموتیک را نیز نشان دهد.
تشخیص تفاوت اثر محلول های ایزواسموتیک و هیپواسموتیک، سخت است. زیرا در هر دو حالت، غشای سلولی نسبتا به دیواره سلولی چسبیده است. اما با مقایسه طول سلول ها تا حدی می توان تشخیص داد که کدام محلول هیپواسموتیک تر است. اندازه سلول ها در این حالت کمی بزرگتر از حالت ایزواسموتیک است.

بررسی خواص فیزیکی و شیمیایی رنگدانه‌های فتوسنتزی

عکس زیر به ترتیب از چپ به راست لوله های شماره ۱ تا ۳ را نشان می دهد.



همان‌طور که در بخش مواد و وسایل ذکر شده است، عصاره ما اتانولی است. در لوله ۲(کنترل لوله ۱) ما با اضافه کردن اترنفت، باعث دو فاز شدن عصاره می شویم. همانطور که در جلسه اول توضیح داده شد، دو رنگیزه قطبی‌تر(کلروفیل b و گزانتوفیل) در اتانول باقی مانده و دو رنگیزه ناقطبی تر(کاروتن و کلروفیل a) در فاز اترنفتی حل می شوند. پس فاز بالایی باید سبز پررنگ و فاز پایینی سبز کم رنگ باشد(به دلیل غلظت بیشتر کلروفیل ها نسبت به بقیه رنگیزه ها). ((دقت کنید که در پروتوکل رنگ سبز زیتونی و سبز پررنگ و سبز آبی و سبز لجنی و ... را تفکیک نکرده است)). اما در لوله ۱: با اضافه کردن پتاسیم هیدروکسید ، دم فیتولی(بخش قطبی کلروفیل) جدا می شود. همچنین یک متانول از کلروفیل آزاد شده و یون های پتاسیم به حلقه پورفیرین متصل می شوند. به ترکیب حاصل شده، کلروفیلین یا کلروفیلیک اسید می‌گویند.

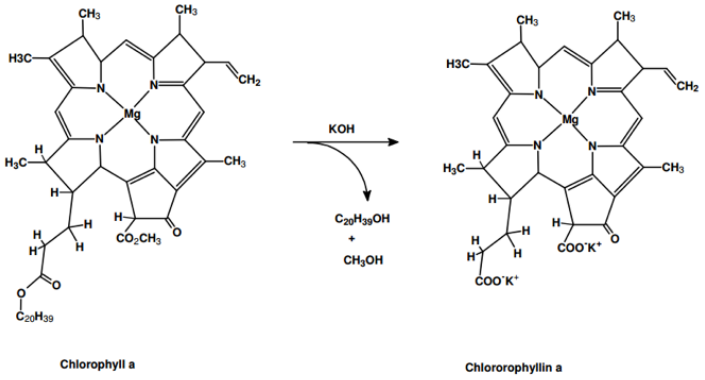


Figure 3. Reaction of Chlorophyll *a* with base

هنگام اضافه کردن اترنفت به عصاره، چه اتفاقی می افتد؟ فرق آن با حالت قبل چیست؟ در لوله شماره ۲، کلروفیل a به دلیل ناقطبی بودن در اترنفت حل می شود. اما در این حالت، کلروفیل a ذم فیتولی خود را از دست داده و قطبی تر شده است. پس در اتانول حل می شود! پس در این حالت در فاز اترنفت، کاروتن و در فاز اتانولی، کلروفیل ها و گزانتوفیل وجود دارند. پس رنگ نسبتا زردی که در فاز اترنفتی به وجود آمده، به دلیل کاروتن است که به دلیل غلظت کم نتوانسته محلول را به طور کامل نارنجی یا قرمز کند. در فاز پایینی نیز به دلیل وجود حلقه های پورفیرینی کلروفیل ها، رنگ سبز لجنی مشاهده می شود.

در لوله شماره ۳، پس از اضافه کردن اسید، منیزیم کلروفیل جدا شده و فئوفیتین تشکیل می شود که رنگ قهوه ای زیتونی دارد.

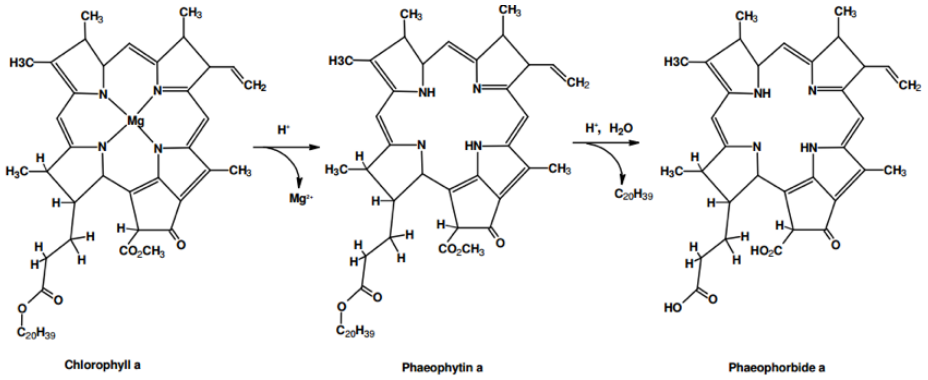


Figure 2. Reaction of Chlorophyll *a* with acid