آزمایشگاه سنجشی
بیست‌ودومین المپیاد
زیست‌شناسی ایران

آزمایشگاه فیزیولوژی

آزمون نهایی

جانوری. شامل شش بخش

گیاهی. شامل پنج بخش

زمان آزمون: ۱۲۰ دقیقه

مواد و وسایل:

- ۱ عدد سمپلر ۱۰۰۰ - ۱۰۰
- ۱ عدد سمپلر ۱۰۰ - ۱۰
- ۱۰ عدد کووت
- ۲ عدد ارلن مایر
- ۱ عدد پیپت پاستور
- ۱ عدد میکروپلیت
- پیست آب مقطر
- فویل
- ۶ عدد فالکون نمونه: N_s, N_c, S_1, C_1, S_2, C_2
- ۱ عدد فالکون حاوی واکنشگر وانادیوم مولیبدات (R)
- ۱ عدد فالکون حاوی محلول edta (EDTA)
- ۱ عدد فالکون حاوی محلول بافر آمونیوم (baf)
- ۲ عدد ویال حاوی شناساگر اریوم کروم بلک T (I)
- ویال Assay buffer (Ab)
- ویال CE
- ویال W
- ویال CS
- ویال Sb
- مارکر
- دستمال کاغذی
- ظرف waste

فیزیولوژی جانوری

اندازه گیری غلظت فسفات غیر آلی و منیزیم در نمونه سرم و مایع مغزی نخاعی (CSF) می‌تواند یکی از راه‌های تشخیصی در بیماری‌های نورولوژیکی باشد.

در این بخش به شما ۶ نمونه که از ۳ بیمار گرفته شده داده شده است. ۳ نمونه شامل نمونه‌های سرم این سه نفر و ۳ نمونه شامل مایع مغزی نخاعی این سه نفر گرفته شده است. نمونه های N_s و N_c به ترتیب مربوط به سرم و CSF یک فرد نرمال است.

بخش اول

در این بخش شما با توجه به پروتکل غلظت فسفات نمونه‌ها را می‌سنجید.

اساس علمی آزمایش:

وانادیوم موجود در واکنشگر، یون محلول را کاهش می‌دهد و سپس فسفات کاهش یافته با مولیبدات یک کمپلکس رنگی تشکیل می‌دهد که می‌توان جذب نوری آن را اندازه گرفت. غلظت یون فسفات با کمپلکس تشکیل شده برابر خواهد بود. شما در این آزمایش ابتدا تمام یون فسفات را به کمپلکس رنگی تبدیل می‌کنید، سپس جذب این کمپلکس رنگی را اندازه‌گیری می‌کنید.

دقت کنید که واکنشگر واندیوم مولیبدات روی دست شما نریزد، زیرا هم محلول اسیدی می‌باشد و هم واکنشگر بسیار سمی می‌باشد.

روش انجام کار:

۱. داخل کووت‌ها از ۶ نمونه‌ی داده شده به مقدار 0.6cc بریزید.
۲. در داخل کووت‌ها، 0.6cc از واکنشگر وانادیوم مولیبدات بریزید. (قبل از ریختن واکنشگر، فالکون را اندکی تکان دهید، و دقت کنید که در معرض نور قرار نگیرد.)
۳. سپس در داخل کووت‌ها، 1cc آب مقطر بریزید.
۴. کووت را به آهستگی بر روی میز حرکت بدهید تا تمام محلول همگن شود. (می‌توانید از پیپتاژ اسفاده کنید.)
۵. سپس کووت را ساکن حداقل به مدت ۴ تا ۶ دقیقه نگه دارید، تا واکنش کامل انجام شود (زمان استراحت از این مقدار کم‌تر یا بیش‌تر نشود).
۶. سپس در طول موج 440nm مقدار جذب محلول را اندازه بگیرید.

- یک کووت اضافی برای تهیه محلول بلنک در اختیار شما قرار داده شده است.

توجه کنید: برای ساخت نمونه‌ی بلنک به جای نمونه‌ی داده شده، آب مقطر بریزید.

- برای گرفتن نوبت اسپکت از **نشان آبی** استفاده کنید. ۲ دقیقه برای خواندن جذب وقت دارید.

$$\varepsilon = 3100\frac{1}{M}$$

سوال ۱: جدول زیر را با توجه به جذب‌های به‌دست آمده‌ی خود پر کنید. (۹ نمره)

نمونه	blank	C_2	S_2	C_1	S_1	N_c	N_s
جذب							

سوال ۲: با توجه به جذب های گرفته شده غلظت فسفات در محلول نمونه های اولیه را محاسبه کنید. (تا یک رقم اعشار)(۶ نمره)

جرم مولی PO_4^- = 95 g/mol

نمونه	C_2	S_2	C_1	S_1	N_c	N_s
غلظت(mg/dL)						

بخش دوم

در این بخش شما با توجه به پروتکل غلظت منیزیم نمونه‌ها را می‌سنجید.

اساس علمی آزمایش:

یون منیزیوم با لیگاند edta به صورت یک‌به‌یک واکنش می‌دهند و کمپلکس تشکیل می‌دهند. شناساگر اریوم کروم بلک T با یون منیزیوم کمپلکس رنگی قرمز تشکیل می‌دهند. هنگامی که تمام یون منیزیوم محلول با edta واکنش می‌دهد، اریوم کروم بلک T به تنهایی در محلول وجود دارد که به رنگ آبی است. در نتیجه نقطه‌ی پایانی هنگامی‌ست که رنگ محلول از قرمز به آبی تبدیل شود. دقت کنید که در نزدیکی نقطه‌ی پایانی شما ممکن است رنگ بنفش ببینید، ولی نقطه‌ی پایانی درست، باید کاملاً به رنگ آبی باشد. یک نمونه‌ی شاهد درست شده است که در صورت نیاز از مراقب امتحان بخواهید نمونه‌ی شاهد را برای شما بیاورد. (**نشانگر قرمز** را بالا ببرید)

توجه کنید درب بافر و شناساگر باز نماند زیرا که دارای آمونیاک می باشند که بوی ناخوشایندی دارند.

توجه کنید ارلن مایر خود را قبل از تیتراسیون با آب مقطر بشورید.

۱. 5cc از محلولی که می خواهید مقدار منیزیوم آن را بسنجید، درون ارلن مایر بریزید.
۲. 3cc از بافر آمونیوم را با استفاده با پیپت پاستور پلاستیکی درون ارلن مایر خود اضافه کنید.
۳. 0.1cc از محلول شناساگر اریوم کروم بلک T درون ارلن مایر بریزید. (توجه کنید که قبل از استفاده، فالکون را اندکی تکان دهید و توجه کنید که محلول خیلی در معرض نور قرار نگیرند.)
۴. تیتراسیون را با توجه به دستور کار زیر انجام دهید.

- ابتدا با استفاده از سمپلر، 1cc از محلول edta به ارلن مایر اضافه کنید. ارلن مایر خود تکان دهید. اگر تغییر رنگ مشاهده نکردید، بار دیگر 1cc از محلول edta به آن اضافه کنید و ارلن مایر را تکان دهید. این عمل را تا مشاهده‌ی تغییر رنگ تکرار کنید. توجه کنید که اگر شما پس از ۵۰ بار اضافه کردن، تغییر رنگ مشاهده کردید، در نتیجه نقطه‌ی پایانی شما بین حجم‌های 49cc و 50cc می‌باشد. پس از این مرحله، مرحله‌ی بعدی تیتراسیون خود را با توجه به مطالب زیر ادامه دهید.

۵. دوباره درون ارلن مایر مطابق مراحل ۱ تا ۳ یک نمونه بسازید.
۶. مرحله‌ی دوم تیتراسیون خود را با توجه به توضیحات زیر انجام دهید:

- با توجه به مثال قسمت قبلی شما می‌دانید نقطه ی پایانی بین 49cc و 50cc می باشد. حال شما تا حجم 49cc از edta را با استفاده از مقادیر 1cc به وسیله‌ی سمپلر اضافه کنید. بعد از اضافه کردن 49cc ، حال ادامه‌ی تیتراسیون را با اضافه کردن حجم‌های 0.1cc با استفاده از سمپلر ادامه دهید، تا به نقطه‌ی پایانی برسید. اگر پس

از ۵ مرتبه اضافه کردن حجم‌های 0.1cc به نقطه‌ی پایانی رسیدید، شما عدد 49.5cc را به عنوان حجم مصرفی برای تیتراسیون اعلام کنید.

سوال ۳. حجم مصرفی EDTA برای هر نمونه را در جدول زیر وارد کنید. (تا یک رقم اعشار) (۹ نمره)

نمونه	C_2	S_2	C_1	S_1	N_c	N_s
حجم (mL)						

سوال ۴. با توجه به جدول بالا غلظت منیزیم در محلول اولیه‌ی هر نمونه را یادداشت کنید. (تا یک رقم اعشار) (۶ نمره)

غلظت edta = 0.0025M

جرم مولی Mg = 24 g/mol

دقت کنید که واکنش منیزیوم با edta یک‌به‌یک می‌باشد.

نمونه	C_2	S_2	C_1	S_1	N_c	N_s
غلظت(mg/dL)						

بخش سوم

در این بخش شما با استفاده از روش الایزا میزان ایمونوگلوبینی که در نمونه‌ی CSF هر فرد موجود است را می‌سنجید.

در میکروپلیتی که به شما داده شده است سه چاهک A1، B1 و C1 با آنتی‌بادی coat شده است. بنابراین تنها از این چاهک‌ها برای این بخش استفاده کنید.

۱. ۵۰ میکرولیتر از نمونه‌های ذکر شده + ۵۰ میکرولیتر از assay buffer (Ab) را در چاهک مربوطه بریزید.

نمونه	چاهک
N_c	A1
C_1	B1
C_2	C1

۲. پلیت را به مدت ۱۵ ثانیه به آرامی تکان دهید و سپس چاهک‌ها را با در پلیت پوشانده وبه مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه کنید.

۳. مقدار 50µl از آنزیم کنژوگه شده با علامت (CE) مشخص شده به تمام چاهک‌ها اضافه کنید روی چاهک‌ها را مجددا بپوشانید و به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق و تاریکی انکوبه کنید و در فویل قرار دهید.

۴. محتویات چاهک‌ها را خالی کنید و به چاهک‌ها ۲۰۰ میکرولیتر بافر شستشوی آماده (W) شستشو دهید. سپس چاهک‌ها را وارونه کنید و همراه با تکان دادن خالی کنید. مرحله‌ی شست‌وشو را ۵ مرتبه تکرار کنید. سپس حتما از دستمال کاغذی برای خارج شدن محلول شستشو از چاهک‌ها انجام دهید.

۵. 20µl از سوبسترای آماده‌ی مصرف با علامت CS مشخص شده و مقدار ۱۸۰ میکرولیتر از محلول متوقف‌کننده با علامت (Sb) مشخص شده به تمام چاهک‌ها اضافه کنید. سپس به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق و تاریکی انکوبه کنید و در فویل قرار دهید.

- **نشانگر سبز** را بالا ببرید و برای خواندن جذب وقت بگیرید. از تنظیمات 00 دستگاه برای این بخش استفاده کنید.

سوال ۵. جذب هر سه چاهک را در جدول زیر وارد کنید. (۱.۵ نمره)

چاهک	A_1	B_1	C_1
جذب			

بخش چهارم

نمونه‌های N_c و N_s از یک فرد سالم گرفته شده و به ترتیب مایع مغزی نخاعی و سرم او هستند. مایع مغزی نخاعی که به روش پونکسیون کمری (Lumbar puncture) از افراد گرفته شده و سرم سانتریفیوژ شده‌اند تا سلول‌های آنان به طور کامل جدا شود. فرد ۱ و ۲ مشکوک به داشتن بیماری‌های نورولوژیکی هستند که شما با توجه به نتایجی که از آنالیز سرم (S_1 و S_2) و مایع مغزی نخاعی (C_1 و C_2) این دو فرد به دست آورده‌اید. به سوالات زیر پاسخ داده و بیماری این دو فرد را تشخیص دهید.

با توجه به بخش اول و دوم شما غلظت فسفات ومنیزیم ۶ نمونه‌ی خود را اندازه‌گیری کرده‌اید . در این بخش شما با استفاده از تست آماری t باید مشخص کنید که آیا غلظت فسفات و منیزم در سرم و CSF هر یک از بیماران ۱ و ۲ با نمونه‌ی فرد نرمال تفاوت معنادار دارد یا خیر؟ در این بخش مقادیر به دست آمده برای هر ماده در نمونه‌ی N نماینده‌ی میانگین جامعه و مقادیر به دست آمده برای هر ماده در نمونه‌های بیماران ۱ و ۲ نماینده‌ی میانگین نمونه‌هایی از افراد مبتلا به بیماری مذکور در نظر گرفته می‌شود. estimated error of the mean برای هر مقایسه به شما داده شده است.

به عنوان مثال: $\mu_{Mg.serum} = [Mg]_{N_s}$

$$\frac{S_{P.serum}}{\sqrt{n}} = 0.89$$

$$\frac{S_{Mg.serum}}{\sqrt{n}} = 1.70$$

$$\frac{S_{P.CSF}}{\sqrt{n}} = 1.54$$

$$\frac{S_{Mg.CSF}}{\sqrt{n}} = 0.6$$

$$\frac{S_{IG}}{\sqrt{n}} = 0.10$$

سوال ۶. جداول زیر را کامل کنید.

(هر جدول ۳ نمره)

	t-score	p-value	تفاوت (معنی‌دار / بی‌معنی)
p_{serum}(N و 1)			
p_{serum}(N و 2)			

	t-score	p-value	تفاوت (معنی‌دار / بی‌معنی)
Mg_{serum}(N و 1)			
Mg_{serum}(N و 2)			

	t-score	p-value	تفاوت (معنی‌دار / بی‌معنی)
p_{CSF}(N و 1)			
p_{CSF}(N و 2)			

	t-score	p-value	تفاوت (معنی‌دار / بی‌معنی)
Mg_{CSF}(N و 1)			
Mg_{CSF}(N و 2)			

بخش پنجم

در این قسمت نمودار استاندارد جذب ایمونوگلوبین به شما داده شده است. با توجه به این نمودار غلظت پروتئین در هر سه چاهک را محاسبه کنید. مانند قسمت قبل با تست آماری t بررسی کنید که آیا غلظت ایمونوگلوبین در نمونه‌ی CSF هر یک از بیماران ۱ و ۲ با نمونه نرمال تفاوت معنی دار دارد یا خیر؟

محلول	غلظت(ng/ml)	جذب
St_1	0.0	0.295
St_2	0.1	0.369
St_3	0.2	0.436
St_4	0.3	0.494
St_5	0.4	0.542
St_6	0.5	0.582

سوال ۷. جداول زیر را کامل کنید.

(۱.۵ نمره)

نمونه	N_C	C_1	C_2
غلظت (ng/ml)			

(۳ نمره)

تفاوت (معنی‌دار / بی‌معنی)	p-value	t-score	
			IG_{CSF}(N و 1)
			IG_{CSF}(N و 2)

بخش ششم

سوال ۸. با توجه به نتایج صحیح یا غلط بودن گزاره‌های زیر را تعیین کنید.(۴ نمره)

آ. در صورت از بین رفتن سد خونی مغزی (Blood Brain Barrier) غلظت فسفات و منیزیم به ترتیب در CSF کم و زیاد می‌شود.

ب. غلظت فسفر و منیزیم درون‌سلولی نسبت به تمام مایعات خارج سلولی از جمله سرم و CSF کم‌تر است.

ج. غلظت بیشتر فسفات در سرم نسبت به CSF به دلیل وجود سد خونی‌مغزی است.

د. اگر سلول‌های مغزی نکروزه شوند غلظت فسفات CSF نسبت به سرم افزایش می‌یابد.

ه. در صورت از بین رفتن سد خونی‌مغزی غلظت فسفات ومنیزیم سرم تغییر نمی‌کند.

با توجه به سایر مطالعات کلینیکی انجام شده روی این دو بیمار پزشکان به سه بیماری پارکینسون ، مننژیت و خون‌ریزی داخل جمجمه ای (intracranial hemorrhage) مشکوک شده‌اند. در پارکینسون سد خونی‌مغزی فرد آسیب می‌بیند. خون‌ریزی داخل جمجمه‌ای به سبب آسیب به بافت‌ها و مویرگ‌های مغز ایجاد می‌شود. از شما خواسته شده تا با توجه به نتایج هر کدام از سه آزمایش انجام شده نوع بیماری هر کدام از این سه نفر را مشخص کنید.

سوال ۹. صحیح یا غلط بودن گزاره‌های زیر را تعیین کنید.(۵ نمره)

آ. در پارکینسون مقدار دوپامین در سیناپس‌های واقع در عقده‌های قاعده‌ای (basal nuclei) مغز کاهش می‌یابد بنابراین تجویز دوپامین تزریقی برای این افراد می‌تواند نشانه‌های بیماری را کاهش دهد.

ب. در مغز افراد پارکینسونی مانند بیماری آلزایمر تجمعات پروتئینی نامحلول در بافت مغز دیده می‌شود.

ج. بیمار مبتلا به مننژیت احتمالا دارای علائمی چون تب، سردرد و تهوع است.

د. در صورت تشخیص مننژیت در بیمار باید سریعاً درمان با آنتی‌بیوتیک را آغاز کرد.

ه. خونریزی داخل جمجمه‌ای، با بالا بردن فشار داخل جمجمه‌ی بافت‌های مغز را تخریب می کند.

سوال ۱۰. بیماری فرد ۱ و ۲ را مشخص کنید. (هر بیمار تنها یک بیماری را دارد) (۳ نمره)

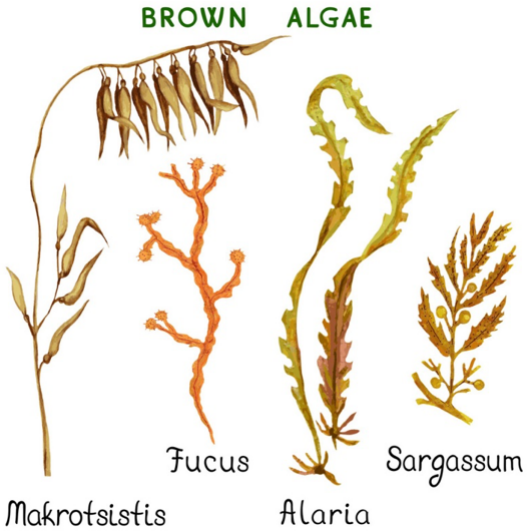
	بیمار ۱	بیمار ۲
پارکینسون		
مننژیت		
خونریزی داخل جمجمه		

فیزیولوژی گیاهی

مواد و وسایل:

- هاون
- دسته هاون
- مقداری جلبک قهوه ای خشک شده
- اتانول (فالکون Ethanol)
- کاغذ صافی
- قیف
- بشر کوچک
- سمپلر ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ و ۱۰ تا ۱۰۰
- رک سرسمپلر آبی و زرد
- Waste خشک
- کووت ۱ عدد
- ساین زرد و قرمز و آبی
- پیست آب مقطر
- عصاره گیاهی P و E
- نشانگر برموتیمول بلو (ویال BTB)
- ماشین حساب
- کرنومتر
- دستک

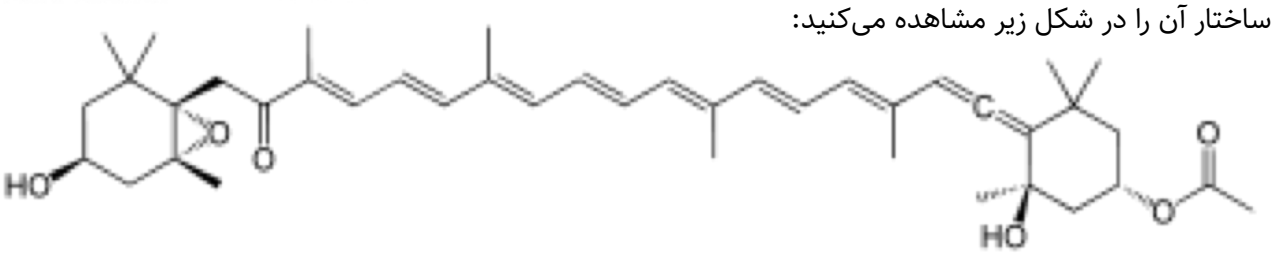
بخش اول. تعیین طیف جذبی فوکوگزانتین در جلبک Sargassum glauscesens



جلبک‌های قهوه‌ای گروهی بزرگ از جلبک های پرسلولی هستند که اکثراً در آب‌های شور زندگی می کنند. این جلبک‌ها کاربردهای متفاوتی در زمینه‌های مختلف دارند. برای مثال از آلژینیک اسید موجود در دیواره‌ی سلولی آن‌ها به عنوان تغلیظ‌کننده‌ی غذا و یا ترکیب ثابت در آند باتری استفاده می‌شود.

اکثر جلبک‌های قهوه‌ای رنگیزه‌ای تحت عنوان فوکوگزانتین دارند. فرمول شیمیایی فوکوگزانتین $C_{42}H_{58}O_6$ است. وجود این رنگیزه‌ی فتوسنتزی به مقدار زیاد در جلبک‌های قهوه‌ای، سبب قهوه‌ای شدن آن‌ها شده است.

ساختار آن را در شکل زیر مشاهده می‌کنید:

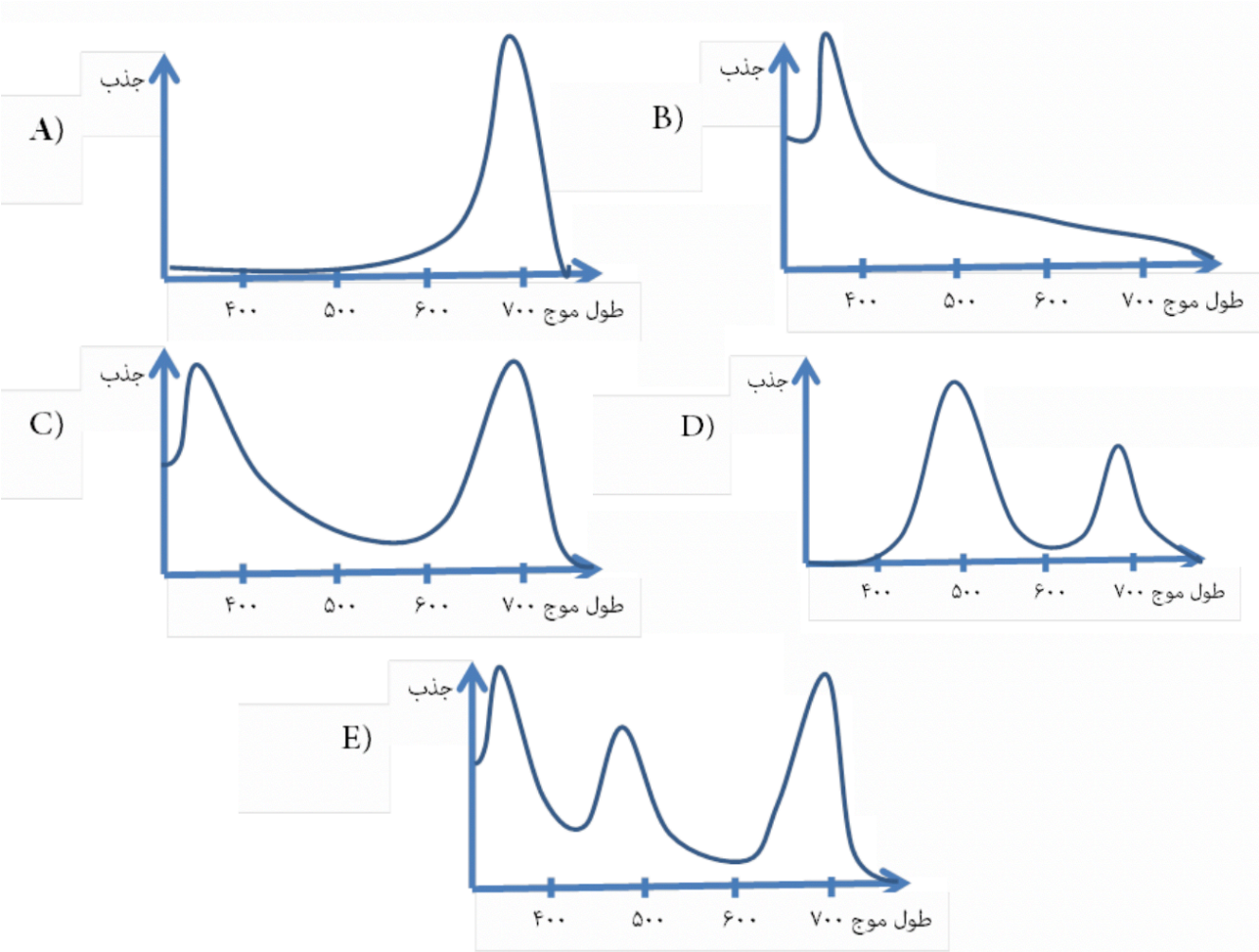


در این قسمت می خواهیم به بررسی این رنگیزه بپردازیم. شما در این بخش پس از استخراج رنگیزه از جلبک قهوه ای (Sargassum glauscesens)، جذب آن را در طول موج‌های دلخواه اندازه گرفته و طیف جذبی آن را بدست می‌آورید.

به شما مقداری جلبک قهوه ای خشک شده در هاون داده شده است.

۱. در ابتدا مقداری جلبک را با دسته هاون بکوبید تا قطعات کوچک‌تری تشکیل شود.
۲. ۱۰ میلی لیتر اتانول را به جلبک اضافه کرده و به خوبی بکوبید تا محلول قهوه ای رنگی تشکیل شود.
۳. با کمک کاغذ صافی و قیف، محلول خود را صاف کرده و در بشر کوچک بریزید.
۴. ۲ میلی لیتر از عصاره جلبک را در کووت ریخته و با بالا بردن ساین زرد، برای خواندن جذب وقت بگیرید. وقت شما در این ایستگاه۱ دقیقه خواهد بود(محلول بلانک در ایستگاه موجود است).
۵. طیف جذبی عصاره جلبکی را بدست آورید.

سوال ۱.۱(۷ نمره. نمره منفی برابر نمره سوال). با توجه به جذب‌هایی که در طول موج‌های مختلف از محلول خود بدست آوردید، کدام طیف جذبی زیر، طیف جذبی عصاره‌ی جلبکی را بهتر نشان می‌دهد؟



سوال ۱.۲ (۳ نمره. نمره‌ی منفی هر گزاره نصف نمره). با توجه به نتایج بالا و دانسته‌های خود، درستی یا نادرستی گزاره‌ها را تعیین کنید.

آ. با توجه به نتایج بالا، می توان گفت که حداکثر جذب فوکوگزانتین در حدود طول موج ۳۷۰ نانومتر است.

ب. رنگیزه فوکوگزانتین احتمالا نوعی کاروتنوئید است.

ج. فوکوگزانتین یک رنگیزه فتوسنتزی به شمار می رود.

د. رنگیزه فوکوگزانتین دارای ۵ عدد کربن کایرال می باشد.

ه. رنگیزه فوکوگزانتین یک استر می باشد.

و. محلول رنگیزه فوکوگزانتین با حلال آب بهتر تهیه می شود.

قسمت دوم: تعیین سازش نوری دو گیاه X و Y

همان‌طور که می دانید، گیاهان بر اساس محیط زندگی خود ، سازش‌های متفاوتی برای حداکثر کردن شایستگی تکاملی خود اتخاذ کرده‌اند. یکی از این سازش‌ها، سازش نوری است. بر این اساس گیاهان را به دو دسته‌ی سایه‌پسند (مثل Asarum caudatum) و نور پسند (مثل Atriplex triangularis) تقسیم می‌کنند. یکی از راه‌های مقایسه‌ی این دو دسته، نمودار پاسخ نوری است.

میزان تولید اکسیژن برگ های گیاهان X و Y در میزان نور های متفاوت اندازه گیری شده است که داده های آن را در زیر می بینید.

شدت نور (میکرومول فوتون بر مترمربع-ثانیه)	نرخ تولید اکسیژن (میکرومول اکسیژن بر مترمربع-ثانیه)	
	برگ X	برگ Y
0	-20	-2
10	-10	-0.5
25	-5	1.5
50	-1	3
100	5	6
250	15	10
500	28	12
600	30	11

سوال ۲.۱: با توجه به داده‌های بالا، تعیین کنید هر کدام از گیاهان X و Y، سایه پسند هستند یا نور پسند؟ (۱ نمره) (نمره منفی ۲ برابر نمره سوال)

	گیاه X	گیاه Y
سایه پسند		
نور پسند		

سوال ۲.۲: با توجه به داده های بالا و دانسته های خود، تعیین کنید هر کدام از گزاره های زیر درست اند یا نادرست (۴.۵ نمره) (نمره منفی۰.۵ برابر نمره سوال) (راهنمایی۱: در چرخه گزانتوفیل، مقدار زآگزانتین در ظهر افزایش و مقدار ویولاگزانتین در این زمان کاهش میابد. راهنمایی ۲: بازده کوانتومی به معنی میزان کربن دی اکسید تثبیت شده به ازای فوتون جذب شده است).

آ. گیاه X دارای برگ های نازک‌تری نسبت به گیاه Y است.

ب. مقدار گزانتوفیل در گیاه X نسبت به گیاه Y بیشتر است.

ج. نقطه جبران کربن دی اکسید برای گیاهان سایه پسند بیشتر است.

د. مقدار زآگزانتین در گیاهان سایه پسند بیشتر است.

ه. حداکثر بازده کوانتومی در تابش نوری فعال فتوسنتزی ۰ تا ۳۰۰ میکرومول بر مترمربع-ثانیه دیده می شود.

و. نسبت کلروفیل b به a و فتوسیستم ابه II در گیاه Y بیشتر از گیاه X است.

قسمت سوم: تشخیص تیپ فتوسنتزی گیاهان

یکی از مسائل موردعلاقه فیزیولوژیست‌های گیاهی، تیپ فتوسنتز در گیاهان مختلف است.
به شما دو عصاره گیاهی از گیاه P و E داده شده است (هنگام آماده‌سازی این دو عصاره، رنگیزه‌های آن جدا شده‌اند).شما در این بخش با تعیین pH عصاره این دو گیاه که در ابتدای روز گرفته شده اند، مشخص می کنید که هر گیاه چه نوع تیپ فتوسنتزی دارد.
در این بخش باید از شناساگر برموتیمول بلو استفاده کنید. این شناساگر می تواند به دو فرم HA و A^- با توجه به pH محلول وجود داشته باشد. HA و A^- دارای ε های متفاوت در یک طول موج هستند. حال برای آن که بتوانیم غلظت هر کدام از HA و A^- را بیابیم، باید دو معادله و دو مجهول زیر را حل کنیم که نیازمند اندازه گیری جذب در ۲ طول موج متفاوت است.

$$A(x\ nm) = C_{A^-} * \varepsilon_{x\ nm(A^-)} + C_{HA} * \varepsilon_{x\ nm(HA)}$$
$$A(y\ nm) = C_{A^-} * \varepsilon_{y\ nm(A^-)} + C_{HA} * \varepsilon_{y\ nm(HA)}$$

با حل دو معادله و دو مجهول بالا، غلظت های HA و A^- به دست می‌آید که که با جایگذاری این غلظت ها در معادله‌ی هندرسون هسل باخ، می توان pH دقیق را به دست آورد.

$$pH = pK_a + \log\left(\frac{A^-}{HA}\right)$$

حال برای برموتیمول بلو، ε در طول موج های مختلف به همراه داده شده است.

$$pK_a = 7.1$$
$$HA: \quad 430nm - 16600M^{-1} \qquad 620nm - 1000M^{-1}$$
$$A^-: \quad 430nm - 3460M^{-1} \qquad 620nm - 38000M^{-1}$$

۱. ۸۰۰ میکرولیتر از هر عصاره را در کووت های جداگانه ای بریزید.
۲. به هر کدام ۵۰۰ میکرولیتر آب مقطر و ۲۰۰ میکرولیتر شناساگر برموتیمول بلو اضافه کنید و به خوبی پیپتاژ کنید.
۳. با بالا بردن ساین زرد، برای خواندن جذب وقت بگیرید. وقت شما در این ایستگاه ۷۵ ثانیه است.(محلول بلانک در ایستگاه موجود است)

سوال ۳.۱(۴ نمره): جذب محلول ها را در طول موج های ۴۳۰ و ۶۲۰ نانومتر در جدول زیر وارد کنید.

	جذب محلول در 620 نانومتر	جذب محلول در 430 نانومتر
P		
E		

سوال ۳.۲(۴ نمره): غلظت HA و A^- را برای هر نمونه بدست آورید.

	غلظت A^-	غلظت HA
P		
E		

سوال ۳.۳(۱نمره): pH هر نمونه را بدست آورید.

P	
E	

سوال ۳.۴(۲ نمره. نمره منفی ۲ برابر نمره سوال): با توجه به نتایجی که بدست آوردید، کدام یک از نمونه‌های P و E تیپ فتوسنتزی CAM دارد؟ روبروی آن X بزنید.

P	
E	

قسمت چهارم: بررسی اثر عوامل مختلف بر جوانه زنی دانه گندم

گیاه از لحظه تشکیل شدن سلول تخم تا تبدیل شدن به یک گیاه بالغ، مراحل متعددی را طی می کند. در ابتدا مراحل مختلف بلوغ دانه را طی می کند. سپس وارد فاز خفتگی شده و در شرایط محیطی مناسب، خفتگی آن شکسته شده و جوانه می زند. در این قسمت شما به بررسی عوامل مختلف در شکستن خفتگی و جوانه زدن دانه خواهید پرداخت.

در ایستگاه جوانه، ۶ پلیت حاوی دانه های جوانه زده شده و جوانه زده نشده می بینید. پلیت های A و B و C به ترتیب مربوط به دانه های گندم تیمار شده با ماده LIMUS ، تیمار شده با ماده LLLMB و عدم حضور این دو ماده هستند. پلیت های D و E و F مربوط به دانه های گندم تیمار شده با نورهای مختلف هستند.

۱. با بالا بردن **ساین زرد**، برای آمدن به ایستگاه جوانه وقت بگیرید. ۴ دقیقه در این ایستگاه وقت دارید
۲. تعداد کل دانه های جوانه زده شده و جوانه زده نشده را در هر پلیت بشمارید و با توجه به آن، به سوالات بعدی پاسخ دهید

سوال ۴.۱: درصد دانه های جوانه زده شده در هر پلیت را در جدول زیر وارد کنید. (۳ نمره)

درصد دانه های جوانه زده شده	نام پلیت
	A
	B
	C
	D
	E
	F

سوال ۴.۲: با توجه درصد دانه‌های جوانه زده شده در هر پلیت، مشخص کنید که گزاره های زیر صحیح‌اند یا غلط. (۳ نمره) (نمره منفی ۰.۵ برابر نمره سوال)

آ. نقش ماده LIMUS در جوانه زدن دانه، مانند ژیبرلین است.

ب. احتمالا دانه های موجود در پلیت F ، ابتدا تحت تیمار نور قرمز و سپس نور قرمز دور قرار گرفته اند.

ج. نسبت غلظت به در دانه های پلیت D، بیشتر از پلیت F است.

د. در صورتی که دانه های پلیت C را تحت تیمار با نور قرمز ممتد قرار دهیم، درصد دانه های جوانه زده به طرز معناداری افزایش میابد.

قسمت پنجم: بررسی علائم کمبود عناصر معدنی بر گیاه

برای شناخت علائم کمبود عناصر معدنی در گیاهان علاوه بر توجه به نقش آن عنصر معدنی، باید به میزان تحرک عنصر در گیاه نیز دقت کرد. بر این مبنا عناصر را در دو گروه کم تحرک و پر تحریک قرار می دهند. از بین عناصر پر مصرف در گیاهان، پتاسیم و منیزیم و نیتروژن پر تحرک اند.

جدول زیر نقش های اصلی بعضی از عناصر معدنی در گیاهان را نشان می دهد:

فسفر	گوگرد	پتاسیم	منیزیم	نیتروژن	آهن	کلسیم
موجود در ساختار نوکلئیک اسید ها و فسفولیپید ها و ATP	موجود در ساختار پروتئین ها	دخیل در تعادل آب- کوفاکتور آنزیم های مختلف- دخیل در باز و بسته شدن روزنه	موجود در ساختار کلروفیل- کوفاکتور آنزیم های مختلف	موجود در ساختار نوکلئیک اسید ها و پروتئین ها و کلروفیل	کوفاکتور یک آنزیم که در مسیر سنتز کلروفیل دخیل است	ترکیب مهم در تیغه میانی و دیواره سلولی- انتقال پیام- تنظیم فعالیت غشا

شما در این قسمت با توجه به اطلاعات بالا و دانسته های خود، مشخص می کنید که هر کدام از عکس ها نشان دهنده کمبود کدام عنصر معدنی هستند.

برای آمدن به ایستگاه عناصر، با بالا بردن **ساین زرد** از مسئول آزمایشگاه وقت بگیرید. وقت شما در این ایستگاه ۱ دقیقه است.

سوال ۵.۱: در هر کدام از گیاهان A تا E، کمبود مربوط به کدام عنصر معدنی است؟(از بین گزینه های زیر، انتخاب کنید) (۲.۵ نمره) (نمره منفی۰.۵ برابر نمره سوال)

(راهنمایی: برگ های A و D و E مربوط به برگ های جوان هستند.)

آ. گیاه سالم است ب. گوگرد ج. فسفر د. پتاسیم ه. کلسیم

گیاه	A	B	C	D	E
نام عنصری که کمبود آن مشاهده می شود					

سوال ۵.۲: با توجه به نتایج بالا و دانسته های خود، درستی یا نادرستی گزاره های زیر را تعیین کنید. (۲ نمره) (نمره منفی ۰.۵ برابر نمره سوال)

آ. انتظار می رود که کمبود کلسیم سبب نرمی عناصر آوند چوب بالغ شود.

ب. در گیاه C تولید بیش از حد آنتوسیانین رخ داده است.

ج. نشانه های کمبود آهن در برگ های راسی گیاه ظهور میابد.

د. علائم کمبود مواد معدنی در خاک های فقیر اسیدی زودتر ظاهر می شوند.