



Claudia Girth-Diamba i Bjørn Fahnøe

Solrød Gymnasium, Solrød Center 2, DK 2680 Solrød Strand, E: sgcg@solgym.dk

Obserwacja fotosyntezy u roślin wodnych

Prosty przepis na wykrywanie tlenu wytwarzanego w procesie fotosyntezy przy użyciu wskaźnika wrażliwego na tlen

Cel

Wszystkie rośliny produkują tlen w procesie fotosyntezy. U roślin wodnych tlen dyfunduje do wody i tylko wtedy, gdy woda jest natleniona, może być widoczny w postaci bąbelków. Wczesne wykrycie tlenu w prezentowanym eksperymencie jest możliwe dzięki użyciu wskaźnika wrażliwego na tlen zwanego indygo karmin. Kolor wskaźnika w formie zredukowanej jest żółty. Kiedy wskaźnik utlenia się, dzięki tlenowi powstającemu w czasie fotosyntezy, zmienia kolor na ciemno niebieski podobny do koloru dżinsów.

W trakcie eksperymentu możesz śledzić produkcję tlenu w różnych częściach rośliny, a także obserwować jego dyfuzję do wody otaczającej roślinę w postaci niebieskich linii wychodzących z różnych części rośliny.

Wstęp

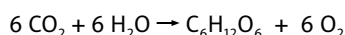
Fotosynteza jest jednym z podstawowych procesów biochemicznych u roślin, w trakcie którego, dzięki pochłanianej energii słonecznej, produkowane są związki chemiczne zasobne w energię. Celem reakcji jest produkcja ATP, cząsteczki, która może gromadzić energię aby później stać się substratem (czasem także koenzymem) w szlakach syntezy wymagających dostarczenia energii. W trakcie fotosyntezy cząsteczka H_2O ulega rozpadowi, pochodzące z niej atomy wodoru tworzą zredukowaną formę NADPH, a atomy tlenu są uwalniane do środowiska w postaci cząsteczek O_2 . Reakcja fotosyntezy jest możliwa tylko wtedy, gdy roślina posiada chloroplasty, a w nich chlorofil i inne barwniki fotosyntetyczne. Powstające ATP i NADPH są później wykorzystywane w tzw. cyklu Calvina umożliwiając przekształcenie sześciu cząsteczek dwutlenku węgla w glukozę. Glukoza jest pierwszym produktem fotosyntezy, który może być transportowany do innych części rośliny i tam gromadzony. Glukoza może być przekształcana w inne związki, które są kluczowe dla wzrostu i rozwoju rośliny. Część puli glukozy jest wykorzystywana do produkcji energii niezbędnej w reakcjach syntezy. Proces przekształcenia glukozy i tlenu w wysokoenergetyczne związki - ATP oraz $NADH_2$ i produkcja dwutlenku węgla jako odpadu jest nazywany oddychaniem.

Naukowcy w XVIII i XIX wieku byli zaintrygowani zdolnościami roślin do życia i wzrostu jedynie dzięki powietrzu, wodzie, prostym mikroelementom i światłu. Postanowili zidentyfikować składniki tej reakcji. W 1780 roku angielski chemik Joseph Priestley odkrył, że rośliny produkują tlen - składnik, który początkowo nazywał po prostu „powietrzem”. Odkrył, że otrzymane przez niego „powietrze” powoduje, że świece palą się wyjątkowo jasno. Eksperymentował również z myszami i odkrył, że mysz



Roztwór wskaźnika zmienia barwę na niebieską pod wpływem tlenu uwalnianego z różnych części rośliny wodnej. Elodea canadensis produkuje dużo tlenu na wierzchołku, widzimy to w postaci niebieskich smug.

żyła dłużej zamknięta w otrzymanym przez niego gazie niż w tej samej objętości zwykłego powietrza. Zaledwie w kilka lat później francuski chemik Antoine Lavoisier sformułował koncepcję utleniania, zdążył to uczynić zanim został ścięty podczas rewolucji francuskiej. Rola światła w tym procesie została określona przez duńskiego fizyka Jana Ingenhousza, który kontynuował prace zainspirowany eksperymentami Priestlysa. Rola dwóch pozostałych składników fotosyntezy - dwutlenku węgla i wody - została odkryta przez dwóch chemików żyjących w Genewie, Jeana Senebiera i Theodora de Saussurea i zakończyła się opisaniem reakcji chemicznej:

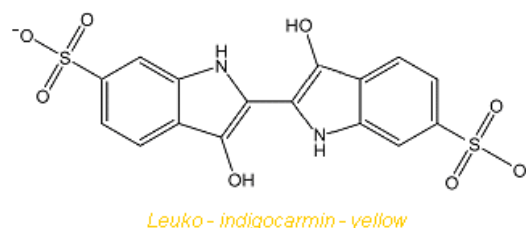
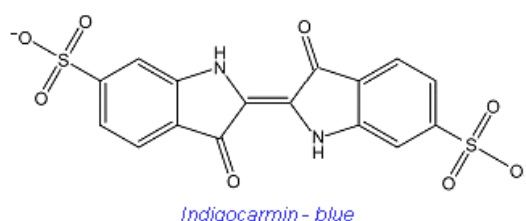


Niemiecki chirurg, Julius Mayer, opisał „cel” fotosyntezy krótko i precyzyjnie: „Natura postawiła sobie problem jak złapać w locie promienie światła docierające do ziemi i związać je gromadząc najbardziej nieuchwytną siłę ze wszystkich. Rośliny pobierają jedną formę energii – światło, a produkują inną energię - chemiczną różnorodność.”

(http://www.chm.bris.ac.uk/motm/chlorophyll/chlorophyll_h.htm)

W prezentowanym eksperymencie śledzimy produkcję tlenu przez rośliny wodne poprzez obserwację zmiany barwy wskaźnika wykrywającego tlen. W ten sposób będziemy mogli odpowiedzieć na dwa pytania badawcze: Czy światło jest potrzebne do produkcji tlenu? W tym celu porównamy doświadczenia prowadzone na świetle i w ciemności. Czy nienaruszone struktury takie jak chloroplasty są ważne dla fotosyntezy? W tym celu zniszczymy jedną roślinę, poprzez włożenie jej na kilka minut do gorącej wody.

Rola dwutlenku węgla w procesie fotosyntezy jest trudna do przetestowania w systemie wodnym, ponieważ w wodzie zwykle jest rozpuszczone bardzo dużo tego gazu, co uniemożliwia dwutlenkowi węgla spełnienie roli czynnika limitującego fotosyntezę.



Sprzęt i materiały

Potrzebne dla każdego zespołu

Sprzęt

- Szczelna butelka o pojemności 1 l
- Butelka z zakrętką o pojemności 50 ml
- 3 kolby płaskodenne o pojemności 100 ml
- 2 zlewki o pojemności 100 ml
- Silne źródło światła, np. rzutnik do folii albo świetlówka dla roślin
- Czajnik
- Pipeta na 5 ml
- Folia aluminiowa

Materiały

- Roślina wodna np. Moczarka kanadyjska (*Elodea canadensis*)

Odczynniki

- 30 ml 1% roztworu ditionianu sodu $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$,
- 50 mg barwnika indygo karmin
- Olej sałatkowy, około 100 ml
- Wrząca woda

Przygotowanie 1% roztworu ditionianu sodu:

- 1 Tuż przed eksperymentem wsyp 300 mg ditionianu sodu $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ (jakości laboratoryjnej) do butelki o objętości 50 ml.
- 2 Dodaj 30 ml wody i rozpuść odczynnik poprzez wstrząsanie szczelnie zamkniętej butelki.



Środki bezpieczeństwa:

Ditionian sodu jest szkodliwy, unikać kontaktu ze skórą i przechowywać w zamkniętych pojemnikach. Otwierać butelkę tylko na krótko i unikać wdychania oparów.

Przygotowanie roztworu wskaźnika wrażliwego na tlen

- 1 Dodaj 50 mg barwnika indygo karmin (nie musi być bardzo dokładnie odważony) do butelki o pojemności 1 l.
- 2 Zagotuj 1 litr wody z kranu.
- 3 Nalej litr gorącej wody do butelki z indygo karminem, pozostaw tylko około 2 cm powietrza nad powierzchnią roztworu. *Gotująca się woda zawiera bardzo mało tlenu.*
- 4 Zamknij butelkę i wstrząsaj dopóki indygo karmin się nie rozpuści. Cały czas butelka powinna być zamknięta.
- 5 Umieść butelkę w lodówce i pozostaw do całkowitego schłodzenia roztworu. Ewentualnie można schłodzić roztwór wskaźnika w łaźni lodowej. Roztwór wskaźnika można przygotować dzień przed eksperymentem, żeby nie tracić czasu na studzenie roztworu.
- 6 Bezpośrednio przed eksperymentem dodaj 15 ml 1% roztworu ditionianu sodu do roztworu wskaźnika, zakręć butelkę i delikatnie zamieszaj.
- 7 Dolej 1 ml roztworu ditionianu sodu do roztworu wskaźnika, zakręć zakrętkę i delikatnie wymieszaj. Powtarzaj procedurę aż roztwór wskaźnika zmieni kolor na żółty.
- 8 Na koniec dodaj jeszcze 3 ml ditionianu sodu, zamknij butelkę i zamieszaj.

Przebieg doświadczenia

- 1 Wybierz 3 kawałki roślin wodnych o tej samej wielkości - upewnij się, że gałązki zawierają wierzchołek. Umieść po jednej gałązce w trzech kolbach. Podpisz kolby 1, 2 i 3.
- 2 Zagotuj trochę wody z kranu i zalej nią roślinę w kolbie nr 3. Pozostaw roślinę w gorącej wodzie na 5 minut.
- 3 Usuń wodę z kolby nr 3.
- 4 Nalej bardzo delikatnie roztwór wskaźnika do kolb nr 1, 2 i 3 tak, aby całe gałązki były zanurzone. Pokryj powierzchnię cieczy cienką, 1 cm warstwą oleju sałatkowego. *Olej zabezpiecza przed dyfuzją tlenu atmosferycznego do roztworu.*
- 5 Nalej także wskaźnik do jednej ze zlewek (nr 4) i pokryj powierzchnię cieczy olejem.

- 6 Dodaj roztwór wskaźnika do ostatniej zlewki (nr 5), ale nie pokrywaj jego powierzchni warstwą oleju.
- 7 Owiń szczelnie kolbę nr 2 folią aluminiową i umieść w ciemnym miejscu.
- 8 Umieść pozostałe dwie kolby (nr 1 i 3) razem z dwoma zlewkami na silnym świetle – rzutniku do folii albo pod silną lampą energooszczędną. *Nie ustawiaj lampy ze zwykłą żarówką, która mocno grzeje, w bezpośrednim pobliżu kolb.*
- 9 Zaczekaj i obserwuj kolby przez jedną do trzech godzin.

Wyniki

Zapisz swoje obserwacje. Jeśli to możliwe zrób zdjęcia, jako dodatkowy materiał.

Od lewej do prawej: Zlewka nr 5 zawiera wskaźnik, ale nie zawiera roślin ani warstwy ochronnej z oleju sałatkowego na powierzchni. Kolba nr 1 zawiera świeże rośliny, roztwór wskaźnika wykrywającego tlen i warstwę oleju na powierzchni. Kolba nr 3 zawiera martwe rośliny (gotowane przez 5 minut), roztwór wskaźnika wykrywającego tlen i warstwę oleju na powierzchni. Zlewka nr 4 zawiera roztwór wskaźnika ale nie zawiera roślin ani dodatkowej warstwy oleju na powierzchni. Kolba nr 2 jest umieszczona w ciemności (niewidoczna na zdjęciu).



Po mniej więcej 10-30 minutach w kolbie nr 1 ze świeżymi roślinami zaczynają się pojawiać bąbelki tlenu wokół najmłodszych liści. Można także zaobserwować „chmury” niebieskiego koloru wydostające się z liści.



Po 30 minutach do godziny roztwór wokół roślin przybiera barwę ciemno niebieską. Martwe rośliny w kolbie nr 2 nie produkują tlenu i w związku z tym nie zachodzi zmiana koloru.



Wnioski

- Porównaj wyniki z naczyń nr 1, 2 i 3. Jak wytłumaczysz co się stało?
- Porównaj wyniki z naczyń nr 4 i 5. Jak wytłumaczysz co się stało?
- Porównaj wyniki z naczyń nr 1 i 4. Jak wytłumaczysz co się stało?

Dyskusja

Uczniowie powinni opisać, przeanalizować i wytłumaczyć otrzymane wyniki, zwracając uwagę na każdą kolbę i zlewkę z osobna. Powinni również być w stanie wyjaśnić dlaczego kontrole są niezbędne w tym eksperymencie. Powinni zastanowić się nad kłopotami pojawiającymi się w trakcie eksperymentu, znaleźć ich wytłumaczenie i zaproponować sposób ich zminimalizowania.

Pytania dla uczniów

- Które organizmy są zdolne do przeprowadzania fotosyntezy?
- Jaki jest zysk z procesu fotosyntezy dla pojedynczego osobnika?
- Jaka jest rola fotosyntezy w ekosystemie?
- Co to jest oddychanie? Jaki związek ma ten proces z fotosyntezą?
- Jakie czynniki wpływają na szybkość reakcji fotosyntezy?

Czas oraz wstępne przygotowania

Nauczyciel potrzebuje około godziny na znalezienie świeżego materiału roślinnego i przygotowanie ditionianu sodu, najlepiej to zrobić dzień przed eksperymentem.

Przygotowanie roztworu indygo karminu zajmuje około 1 godziny.

Pojawienie się niebieskiego zabarwienia zajmuje od 1/2 do 3 godzin. Jest to jednak bardzo dobry czas na inne zadania, jak np. praca nad teoretycznymi zagadnieniami związanymi z fotosyntezą.

Pomysły na dodatkowe doświadczenia

Można przeprowadzić podobne eksperymenty na innych gatunkach roślin wodnych, zwłaszcza tych, które uczniowie mogą zgromadzić samodzielnie podczas wycieczek terenowych.

Bezpieczeństwo pracy

Indygo karmin jest prostym i tanim odczynnikiem chemicznym. Podobnie ditionian sodu $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$. Ditionian sodu jest klasyfikowany jako odczynnik groźny dla zdrowia. Ma zapach gnijących jajek, w związku z czym trzeba go trzymać w dobrze wentylowanym pomieszczeniu lub szafce. Minimalizując narażanie uczniów na jego szkodliwe działanie nauczyciel powinien odważyć porcje 300 mg dla każdego zespołu i wsypać do butelek z zakrętkami. Uczniowie mogą później dodać samodzielnie 30 ml wody.



Gdy porównujemy zlewki nr 4 i 5 możemy zwrócić uwagę na warstwę oleju na powierzchni wskaźnika w zlewce po lewej (4). Zapobiega ona dyfundowaniu tlenu atmosferycznego do wskaźnika. Zlewka nr 5 po prawej nie ma takiego zabezpieczenia, w związku z czym wskaźnik zaczyna zmieniać kolor na niebieski już po kilku minutach.



Zauważ, że niebieskie zabarwienie roztworu wskaźnika w zlewce nr 5 o nieograniczonym kontakcie z powietrzem, nie jest tak intensywne, jak zabarwienie roztworu w zlewce ze świeżymi roślinami (1). To dowodzi, że rośliny produkują tlen

Dostawcy

Odczynniki wymienione w protokole są dostępne w sklepach sprzedających odczynniki chemiczne (np. <http://www.poch.com.pl>). Powinieneś kupić odczynniki o jakości laboratoryjnej.

Usuwanie i przechwywanie materiałów

Odpady mogą zostać wylane do zlewu, gdyż wszystkie odczynniki są biodegradowalne i używane w bardzo małych ilościach.

Patrz środki bezpieczeństwa dla długoterminowego przechowywania. Rośliny wodne powinny być świeże.

Rozwiązywanie problemów

Największy problem stanowi dodanie dobrej objętości ditionianu sodu do roztworu barwnika. Jeśli doda się go zbyt mało, roztwór wskaźnika zmieni barwę na granatową zaraz po dodaniu do kolb, ponieważ zajdzie reakcja z tlenem atmosferycznym. Jeśli doda się zbyt dużo ditionianu sodu, trzeba bardzo długo czekać aby zaobserwować reakcję barwną pod wpływem wydzielanego tlenu.

Dobra rada - jeśli robisz ten przepis po raz pierwszy, po zmieszaniu gotowego roztworu wskaźnika, odlej 10 ml i wlej do małej kolby. Wstrząśnij i obserwuj kiedy zabarwi się na niebiesko. Jeśli roztwór jest przygotowany prawidłowo, powinno się to stać po około 1-2 minutach wstrząśnięcia.

Inne źródła informacji

Literatura

Frank B. Salisbury and Cleon W. Ross, Plant Physiology (third edition, 1985)

Wadsworth Publishing Compagny, Inc., Belmont, California, USA

Strony www

<http://www.ch.ic.ac.uk/local/projects/steer/chloro.htm>

http://www.chm.bris.ac.uk/motm/chlorophyll/chlorophyll_h.htm

Podziękowania

Ten materiał został po raz pierwszy opublikowany w broszurze Duńskiego Stowarzyszenia Nauczycieli Biologii (FaDB) pod tytułem "BioFag Sænummer" w grudniu 2006.

Ta publikacja jest częścią projektu Volvox, finansowanego ze środków Szóstego Programu Ramowego Komisji Europejskiej.



Różne rośliny dają różne wyniki – tutaj zdjęcie Myriophyllum.

