

Laboratorijsko delo:

LASTNOSTI PLAZMALEME

1. UVOD

Celice delujejo kot odprti sistemi, čeprav je njihova notranjost ločena od okolja s celično membrano. Vse snovi, ki gredo v celico ali iz nje, morajo skozi **celično membrano**. Celična membrana je zunanji del celice in je za snovi pregrada, ki jo morajo preiti. Skoznjo prehajajo snovi v celico in iz nje, nekatere lažje, druge pa težje, kar je odvisno od velikosti in naboja molekul/ionov iz katerih so snovi. Sestoji iz lipidnega dvosloja ter različnih beljakovinskih molekul. Te so razporejene mozaično in neprestano spreminjajo svojo lego in razporeditev, torej nekako »plavajo« v lipidnem dvosloju. Na zunanji strani membrane so še polisaharidne molekule, vezane na beljakovine (glikoproteini) ali na lipide (glikolipidi). Ponazoritveni prikaz (model) membrane, s katerim lahko razložimo njene lastnosti, imenujemo **model tekočega mozaika**.

Podobno zgradbo kot celična membrana imajo tudi vse druge membrane v celici. Vse membrane, ki gradijo celice, označujemo kot **živiljenjske (biotske) membrane**.

Pri tem poskusu smo raziskali, kakšno vlogo in sposobnost ima celična membrana pri ohranitvi pravilnega celičnega ravnotežja v celici. Dokazali smo gibanje molekul v celico in iz nje.

Načini prehodov snovi:

a) **PASIVEN PREHOD**

- pri tem prehodu se energija ne porablja, ker omogoča prehajanje razlika v koncentraciji delcev med zunanostjo in notranostjo
- snovi prehajajo na osnovi koncentracijskega gradienta:

več manj

- pasivno prehajajo delci skozi membrano na tri načine:
 - neposredno skozi lipidni dvosloj (N_2 , O_2 , CO_2 , glicerol, sečnina)
→ DIFUZIJA

 - le skozi pore v beljakovinah, ki so vgrajene v lipidnem dvosloju ($C_6H_{12}O_6$, srednje velike molekule, nabiti delci: H^+ , Na^+ , K^+ , Cl^- ...)

 - s pomočjo prenašalnih beljakovin, na katere se delci začasno vežejo (aminokisliline, monosaharidi, disaharidi)

b) **AKTIVEN PREHOD**

- pri tem prehodu se energija porablja (vir energije so molekule ATP, ki se sintetizirajo pri celičnem metabolizmu)
- snovi prehajajo v nasprotni smeri koncentracijskega gradienta – delci prehajajo iz območja z nižjo proti območju z višjo koncentracijo
- za to vrsto transporta so potrebne posebne prenašalne beljakovine, ki jih imenujemo **membranske črpalke**

manj več

2. NAMEN

–

- razumeti plazmolizo in deplazmolizo v rastlinskih celicah,
- razumeti pojem selektivne prepustnosti plazmaleme,
- razumeti pomen ozmoze.

3. METODA DELA

- kvalitativno opazovanje.

4. MATERIALI

A. Prvi del vaje: » *Kako vplivajo različne koncentracije vodnih raztopin na celice račje zeli?*«

- o račja zel (*Elodea canadensis*)
- o 10 % raztopina kuhinjske soli
- o kapalka
- o objektivno steklo, krovna stekelca
- o destilirana voda
- o mikroskop
- o filtrirni papir

POSTOPEK:

Na objektivno steklo kanemo kapljico vode. Listek račje zeli položimo v vodo na objektivno steklo. Preparat pokrijemo s krovnim stekelcem. Košček filtrirnega papirja položimo ob rob krovnega stekelca, tako da začne vleči vodo izpod stekelca. Na nasprotni strani dodamo ob rob stekelca kapljico 10 % raztopine NaCl. Filtrirni papir tekočino vsrka, tako da slana voda steče pod krovnim stekelcem in obda celice, ki jih opazujemo.

Nato odstranimo raztopino soli in jo zamenjamo z destilirano vodo. Uporabimo nov košček filtrirnega papirja. Destilirana voda steče pod krovno stekelce in zamenja raztopino soli.

B. Drugi del vaje: »Ali celična membrana uravnava prehajanje snovi?«

- o mikroskopski preparat prekuhanih kvasovk namočenih v barvilo kongo rdeče
- o mikroskopski preparat živih kvasovk namočenih v barvilo kongo rdeče

POSTOPEK:

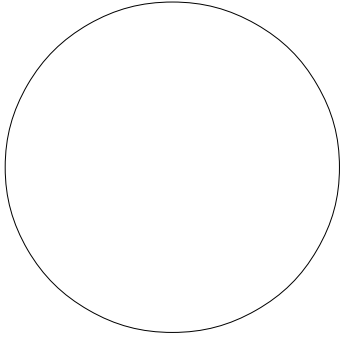
Navodila za izvedbo laboratorijske vaje so v knjigi: Drašler, Gogala, Povž,...: Biologija – navodila za laboratorijsko delo, DZS, Ljubljana, 2000, str. 19.

5. REZULTATI

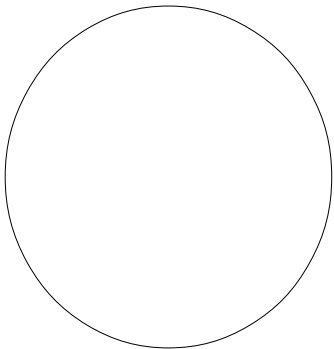
A. Rezultati prvega dela vaje:

a) Skica 1: Celice račje zeli v destilirani vodi

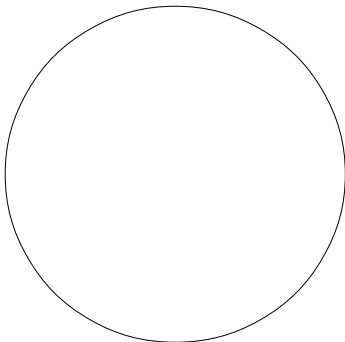
(gledano pri veliki povečavi: 400x)



b) Skica 2: Celice račje zeli v 10 % raztopini soli (Na^+Cl)
(gledano pri veliki povečavi: 400x)

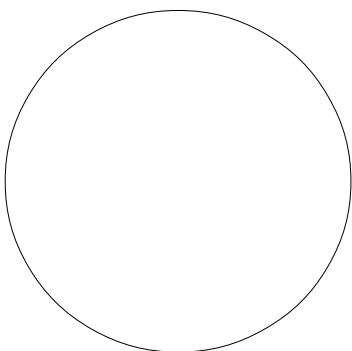


c) Skica 3: Celice račje zeli ponovno v destilirani vodi
(gledano pri veliki povečavi: 400x)

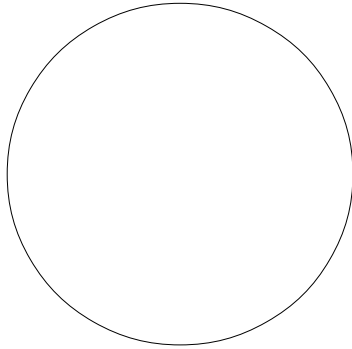


B. Rezultati drugega dela vaje:

a) Skica 4: mikroskopski preparat mrtvih kvasovk v barvilu kongo rdeče
(gledano pri veliki povečavi: 400x)



b) Skica 5: Mikroskopski preparat živih kvasovk v barvilu kongo rdeče
(*gledano pri veliki povečavi: 400x*)



6. RAZPRAVA

V povezavi z vajo moram omeniti dva procesa, s katerima smo se srečali pri vaji:
DIFUZIJO in obliko difuzije – **OZMOZO**.

Difuzija je pasiven način prehajanja delcev (ionov, različnih molekul) od višje k nižji koncentraciji (brez mešanja!; delci težijo za tem, da se čim bolj enakomerno porazdelijo, kot na primer: kapljice črnila v vodi).

Ozmoza pa je prehajanje molekul topila (vode) v smeri koncentracijskega gradienta (=> od višje k nižji koncentraciji) skozi polprepustno membrano, ki ne prepušča molekul topljenca.

A. Prvi del vaje: » Kako vplivajo različne koncentracije vodnih raztopin na celice račje zeli?«

a) Skica 1

Na začetku poskusa celicam račje zeli ustvarimo hipotonično okolje, kar pomeni, da je koncentracija topljenca raztopine izven celic nižja kot v celicah.

Pri tem pa je potrebno razložiti še to, da če se celice znajdejo v izrednih razmerah – v skrajno hipotonični raztopini, npr. v čisti vodi, le ta vdira vanje, celice nabrekajo in lahko počijo. To se lahko zgodi predvsem pri živalskih celicah, kajti notranjost živalskih celic ločuje od okolja le nežna celična membrana in lahko v hipotoničnem okolju tako nabreknejo, da nazadnje počijo. To imenujemo *celični razpad* ali *citoliza*.

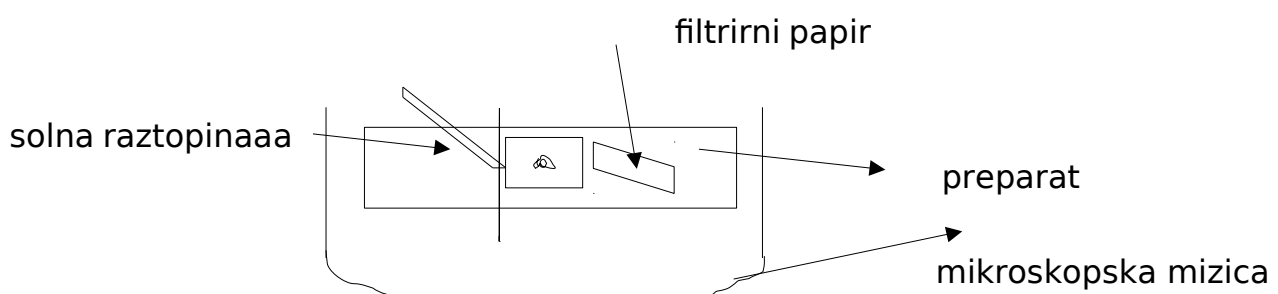
Za razliko od živalskih celic pa rastlinske celice obdaja močna, neživa celična stena, ki je neprepustna za pline in vodo, zdrži velik tlak in zlepa ne počí. Trdnost celične stene prepreči, da bi celice v hipotoničnem okolju nabrekale (=da bi voda prekomerno vdirala v celice) in bi njihove membrane počile. Zaradi osmoze voda doteka v celice, tlak = **turgorski tlak - turgor** na celične stene pa se poveča, zato so celice napete.

Celice račje zeli torej najprej damo v destilirano vodo - v **hipotonično okolje**.

Ker so celice račje zeli rastlinske, voda zaradi močne celulozne celične stene ne vdira kaj preveč v celice, vendar se turgorski tlak na steno celic vseeno poveča, zato so celice napete in zelo lepo vidne pri veliki povečavi (400x).

b) Skica 2

Ker preparatu dodamo vodno raztopino NaCl, se celice račje zeli znajdejo v okolju, v katerem kjer je koncentracija topljenca – NaCl višja kot koncentracija znotraj njih → so v **hipertonični raztopini**. Znotraj celic je koncentracija vodnih molekul precej večja kot v okolici celic, zato vodne molekule prehajajo v smeri koncentracijskega gradienta – iz višje koncentracije k nižji – iz celic v njeno okolico. Celice izgubljajo vodo, tudi vakuole, njihove prostornine se zmanjšajo. Zaradi tega se celične membrane skrčijo in odstopijo od celične stene – dobimo protoplaste. Temu pojavu, ko se celična membrana skrči in odstopi od celične stene, imenujemo **plazmoliza**.



c) Skica 3

Celicam račje zeli ponovno ustvarimo hipotonično okolje – dodamo destilirano vodo. Vodnih molekul je tokrat v okolju celic več kot v njihovi notranjosti. Vodne molekule se zopet gibljejo v smeri koncentracijskega gradienta – iz okolice difundirajo v celice. Celice začnejo nabrekati in počasi dobijo svoje prvotne oblike. Ta obraten proces se imenuje **deplazmoliza**.

B. Drugi del vaje: »Ali celična membrana uravnava prehajanje snovi?«
(prikazan je bil demonstrativno!)

a) Skica 4

Suspenzija kvasa je bila zavreta in zaradi tega so glive kvasovke propadle. To smo lahko na preparatu opazili, saj so se celice obarvale nežno rožnato. Celična membrana je zaradi izpostavljanja visokim temperaturam »zakrknila« = koagulirala in ni opravljala več svojih nalog. Celično steno prekuhanje ni poškodovalo, vendar ker nima lastnosti selektivne prepustnosti, je barvilo kongo rdeče z lahkoto vdrla v notranjost mrtvih celic kvasovk.

b)

Celice živih kvasovk niso sprejele barvila kongo rdeče v svojo notranjost, ... rahlo obarvana je le zunanja plast celic – celična stena. To se je zgodilo zaradi tega, ker imajo žive celice aktivno celično membrano, ki neprestano selekcionira, katere snovi smejo vstopiti v celico-so koristne in katere ne.

7. SKLEPI

- Celična membrana je prepustna za nekatere snovi, katerih prehod je lahko različen glede na njihovo velikost.
- Celica različno reagira v različnih okoljih in se na spremembe prilagaja.
- V celicah se odvijata nasprotna si procesa plazmoliza in deplazmoliza.
- Snovi prehajajo v celico po zakonih osmoze ali pa po zakonih difuzije.

8. LITERATURA

- Drašler J. ; Biologija – navodila za laboratorijsko delo; DZS; 2000; Ljubljana
- Pevec S. ; Biologija – laboratorijsko delo; DZS; 2000; Ljubljana
- Predmetni izpitni katalog za maturo 2004 – Biologija
- Stušek, Podobnik, Gogala; Biologija; Celica 1; DZS; 1997; Ljubljana