**LASTNOSTI PLAZMALEME**

**plazmoliza/deplazmoliza in barvanje gliv kvasovk**

*poročilo*

**1. TEORETIČNI UVOD:**

Celice so obdane z membrano, ki je poleg drugih funkcij, ki jih opravlja, tudi izbirno prepustna ali selektivno permeabilna, kar pomeni da lahko skozi prehajajo samo določene snovi, druge ne. Ločimo pasivno in aktivno prehajanje skozi membrano, pri prvem se energija ne porablja, prid drugem je za prehajanje potrebna energija (ATP). V okviru aktivnega prehajanja ločimo aktivni transport, načini pasivnega prehajanja pa so difuzija, pospešena difuzija in osmoza. O aktivnem transportu govorimo, ko celica prenaša snovi v nasprotni smeri koncentracijskega gradienta (od tam, kjer jih je manj, tja kjer jih je več). Difuzija je gibanje molekul od tam, kjer jih je več, tja kjer jih je manj. Pravimo, da je difuzija usmerjeno gibanje molekul topljenca v smeri koncentracijskega gradienta. Osmoza pa je prehajanje topila (velikokrat voda) od tam, kjer je manjša koncentracija topljenca, tja kjer je raztopljenega topljenca v topilu veliko.

**2. NAMEN VAJE:**

Z vajo smo dokazali lastnosti plazmaleme, ki smo se jih naučili pri pouku, kot prvo, kako se –rastlinska celica obnaša v hipertončni raztopini in kako lahko postopek nato obrnemo, zanimalo nas pa je tudi, kaj se zgodi s plazmalemo gliv, če le-te prekuhamo (odpornost plazmaleme na toploto).

**hipoteze:**

a) Ko bomo celice pomočili v hipertonično raztopino (10% NaCl), se bodo celice skrčile, saj je koncentracija NaCl v okolici višja kot v celici, celica teži k izenačitvi, zato začne oddajati vodo; skrči se samo plazmalema, celična stena je trdna in se zato ne more); po principu osmoze.

b) Plazmalema prekuhanih gliv kvasovk ne bo več selektivno permeabilna, saj smo jo z vročino uničili, kot posledica sledi obarvanje notranjosti celic.

**3. MATERIALI IN PRIPOMOčKI.**

mikroskop, več preparatov povrhnjice luskolista rdeče čebule, navadna voda, destilirana voda, 10% raztopina NaCl, več preparatov z neprekuhanimi in prekuhanimi glivami kvasovkami, barvilo kongo rdeče

**4. METODA:**

**a) plazmoliza/deplazmoliza**

- na objektno steklo kanemo kapljivo navadne vode in vanjo položimo preparat (luskolist odlomimo, odtrgamo košček povrhnjice), nato pokrijemo s krovnim steklom ter opazujemo pod mikroskopom na mali in veliki povečavi

- objektno steklo s preparatom vzamemo z mizice, poleg krovnega stekla kanemo kapljico 10% raztopine NaCl; košček filtrirnega papirja pritaknemo na nasprotni rob krovnega stekla; s tem bomo povlekli raztopino NaCl pod krovno steklo; opazujemo preparat pod malo in veliko povečavo

- ponovimo postopek iz prejšnjega navedka, le da raztopino NaCl zamenjamo z destilirano vodo

**b) odpornost na toploto**

- na objektno steklo kanemo kapljico neprekuhanih gliv kvasovk na eno in prekuhanih gliv na drugo stran; obe kapljici pokrijemo s krovniin steklom, opazujemo pod mikroskopom na mali in veliki povečavi in primerjamo

- ponovimo postopek iz prejšnjega navedka, le da tokrat obarvani kapljici neprekuhanih in prekuhanih gliv; opazujemo in primerjamo

**5.REZULTATI:**

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **celice luskolista rdeče čebule**  **celice gliv kvasovk** | 40x povečava | navadna voda | | 100x povečava | navadna voda | |
|  | |  | |
| 100x povečava  100x povečava | 10% NaOH | | | destilirana voda | |
|  | | |  | |
|  |  | pred obarvanjem | po obarvanju | | | |
|  | neprekuhane celice | | | prekuhane celice |
|  | | |  |

**6. KOMENTAR REZULTATOV:**

**a) plazmoliza/deplazmoliza**

- celice povrhnjice luskolista rdeče čebule v navadni vodi izgledajo kot nekakšni oglati prostorčki, nekateri so vijolične barve (vakuolni sok), tisti, ki pa so se poškodovali so brezbarvni (sok je odtekel); pri majhni povečavi je vidna samo celična stena, pri veliki se že loči celična mernbrana, prav tako pa vidimo tudi jedro; to je začetno stanje

- celice povrhnjice luskolista rdeče čebule v raztopini NaCl so v hipertoničnem okolju, kar pomeni, da je koncentracija zunaj celice večja kot znotraj (v našem primerukoncentracije NaCl), zaradi osmoze celica teži k izenažitvi te koncentracije, zato začne prehajati vakuolni

sok (predvsem voda) iz celice, kot posledica se plazmalema skrči (ker se celična stena ne krči, je sedaj plazmalema lepo vidna - glej rezultate); ta proces se imenuje plazmoliza

- celice povrhnjice luskolista rdeče čebule v destilirani vodi je v hipotoničnem okolju (vakuolni sok je zelo »gost« - malo vode, zunaj pa je samo destilirana voda), spet pride do osmoze, topilo (voda) iz okolice celice prehaja v notranjost (vakuolo) in celice se vrne v začetno stanje, ta proces je deplazmoliza

**b) odpomost na toploto**

- pod mikroskopom sta oba preparata (z neprekuhanimi in prekuhanimi glivami) videti enaka, celice so okrogle in prozorne do zelenkaste, nahajajo se posamičmo ali v kopicah in potujejo po preparatu (pasivno zaradi vode)

- preparata, ki pa sta obarvana pa se med seboj pod mikroskopom ločita; celice so še vedno okrogle in se nahajajo posamezno ali v kopicah, vendar opazimo razliko v barvi znotraj celic, večina celic na neprekuhanem preparatu je še vedno prozorne do zelenkaste barve (nekaj je izjem - mrtve celice), medtem ko pa so pri preparatu s prekuhanimi glivami vse celice obarvane oranžno, saj prej selektivno permeabilna membrana sedaj ne opravlja več svoje funkcije (zaradi vročine) in je barvilo vdrlo v celice

- pokazali smo, da pri prekuhavanju plazmalema zgubi svoje lastnosti in je »uničena«, saj je membrana zgrajena iz različnih beljakovin, ki pri povišani temperaturi koagulirajo (spremenijo zgradbo, se uničijo)

**5. ZAKLJUČEK:**

Lastnosti plazmaleme (selektivna permeabilnost, in posledično difuzija) omogočajo celicam obstoj. Na podlagi difutzije v celico pride hrana in odtečejo snovi, ki so nastale pri določenih procesih v celicah in jih le-ta sedaj ne potrebuje več. Vendar pa ima tudi plazmalemo določeno tolerantno območje, tako glede temperature (kot smo pokazali z vajo), prav tako pa tudi v krčenju oz. raztezanju (lahko se popolnoma zlepi in deplazmoliza ni mogoča - pri prvem preparatu mi je uspelo ravno to; lahko pa tudi poči). Celica se popolnoma zlepi, če je predolgo izpostavljena hipertoničnemu okolju, poči pa lahko pri deplazmolizi, če po premestitvi v hipotonično okolje sprejme preveč vode.