

Gamtamoksliai tyrimai mokykloje
Laboratorinis darbas
Bulvių stiebagumbių vandens potencialo nustatymas

Teorinė dalis

Vandens transportas iš ląstelių ir į jas vyksta pasyviai, difuzijos principu, per lipidinę membraną arba per specialius kanalus akvaporinus. Tirpiklio (pavyzdžiui, vandens) difuzija vadinama osmosu. Transmembraninį vandens transportą lemia cheminio potencialo gradientas: vanduo tekės iš kompartmento su teigiamesniu vandens cheminiu potencialu į kompartmentą su neigiamesniu potencialu. Didinant ištirpusių medžiagų koncentraciją, tirpale mažėja vandens molinė frakcija, kartu ir vandens cheminis potencialas μ_w bei jam proporcingas vandens potencialas Ψ .

Vandens potencialą Ψ sudaro dvi pagrindinės dedamosios: osmosinė Ψ_s ir hidrostatinė Ψ_p . Distiliuoto vandens potencialui priskiriama vertė $\Psi = 0$. Pagal ląstelės (protoplasto) vandens potencialo $\Psi_{\text{ląstelės}}$ ir išorinio tirpalo osmosinio potencialo Ψ_s skirtumą tirpalai skirstomi į hipotoninius ($\Psi_{\text{ląstelės}} < \Psi_s$), izotoninius ($\Psi_{\text{ląstelės}} = \Psi_s$), ir hipertotoninius ($\Psi_{\text{ląstelės}} > \Psi_s$). Osmosinis potencialas Ψ_s pagal savo prigimtį yra entropinė tirpalo savybė: didėjantis tirpinio kiekis didina sistemos netvarkingumą. Tai reiškia, kad osmosinio potencialo Ψ_s vertė nepriklauso nuo tirpinio prigimties. Hidrostatinė dedamoji Ψ_p svarbi palaikant ląstelės struktūrą, dėl sienelės įtempimo skatinant ląstelės augimą. Kartais vandens potencialo Ψ vertei įtakos turi ir gravitacinė dedamoji Ψ_g , tačiau ląstelės lygmenyje vykstantiems procesams ji didesnės įtakos neturi.

Kartais osmosinis potencialas Ψ_s išreiškiamas kaip osmosinis slėgis $\pi = -\Psi_s$, o hidrostatinis potencialas Ψ_p kaip hidrostatinis slėgis $P = \Psi_p$. Tuomet vandens potencialo lygtis tampa tokia: $\Psi = \Psi_s + \Psi_p = -\pi + P$. Hidrostatinis slėgis, kuriuo protoplastas veikia ląstelės sienelę, vadinamas turgoru.

Vanduo gali judėti ir prieš savo koncentracijos gradientą, jei jis yra susietas su vandenyje ištirpusių medžiagų transportu – atskiri hidratuoti jonai, aminorūgštys, cukrūs judėdami per membraną kartu gali sąlygoti bendrą dešimčių vandens molekulių judėjimą.

Fiziologinėmis sąlygomis augalų ląstelių vandens potencialas Ψ siekia iki -1 MPa, tačiau sausringoje aplinkoje augančių ląstelių vandens potencialo Ψ vertės gali siekti iki -5 MPa ekstremaliomis sąlygomis.

Darbo tikslas

Įvertinti vandens judėjimą per augalinės ląstelės membraną priklausomai nuo aplinkos sąlygų.

Darbo užduotys

- 1) Nustatyti vandens potencialą bulvių stiebagumbių ląstelėse.
- 2) Palyginti tos pačios koncentracijos sorbitolio ir CaCl_2 tirpalų sukeltą poveikį bulvių stiebagumbių ląstelėms.

Darbo eiga

- 1) Iš 1 M sorbitolio tirpalo ir distiliuoto vandens pagaminama po 10 ml skirtingų koncentracijų sorbitolio tirpalų (0 M; 0,8 M; dvi pasirinktos tarpinės koncentracijos c_1 ir c_2) (1 lentelė).

1 lentelė. Eksperimento metu naudojami sorbitolio tirpalai.

Tirpalo koncentracija	Medžiagos	
	1 M sorbitolio tirpalas	Distiliuotas vanduo
0,8 M	8 ml	2 ml
c_1 M	? ml	? ml
c_2 M	? ml	? ml
0 M	0 ml	10 ml

- 2) Iš 1 M CaCl_2 tirpalo ir distiliuoto vandens analogiškai pagaminamas CaCl_2 tirpalas, savo koncentracija atitinkantis kurią nors iš pasirinktų sorbitolio tirpalo koncentracijų (c_1 arba c_2).

3) Nulupamas valgomosios bulvės (*Solanum tuberosum* L.), stiebagumbis, išpjauamos 5 kuo vienodesnės lazdelės, maždaug po 0,5 cm aukščio ir pločio, 5-6 cm ilgio. Svarbu, kad nupjauti lazdelių galai būtų kuo lygesni. Pradiniai lazdelių ilgiai l_0 užrašomi į 2 lentelę.

- 4) Lazdelės pamerkiamos į mėgintuvėlius su 10 ml skirtingų koncentracijų sorbitolio ir CaCl_2 tirpalais.

- 5) Preparatai paliekami 60 min.

6) Lazdelės ištraukiamos iš mėgintuvėlių, pamatuojamas jų ilgis. Pagal 1 formulę apskaičiuojamas procentinis lazdelių ilgio pokytis $\Delta l\%$. Baigiama pildyti 2 lentelė.

$$\Delta l\% = \frac{l-l_0}{l_0} \cdot 100\% = \frac{\Delta l}{l_0} \cdot 100\% \quad (1 \text{ formulė})$$

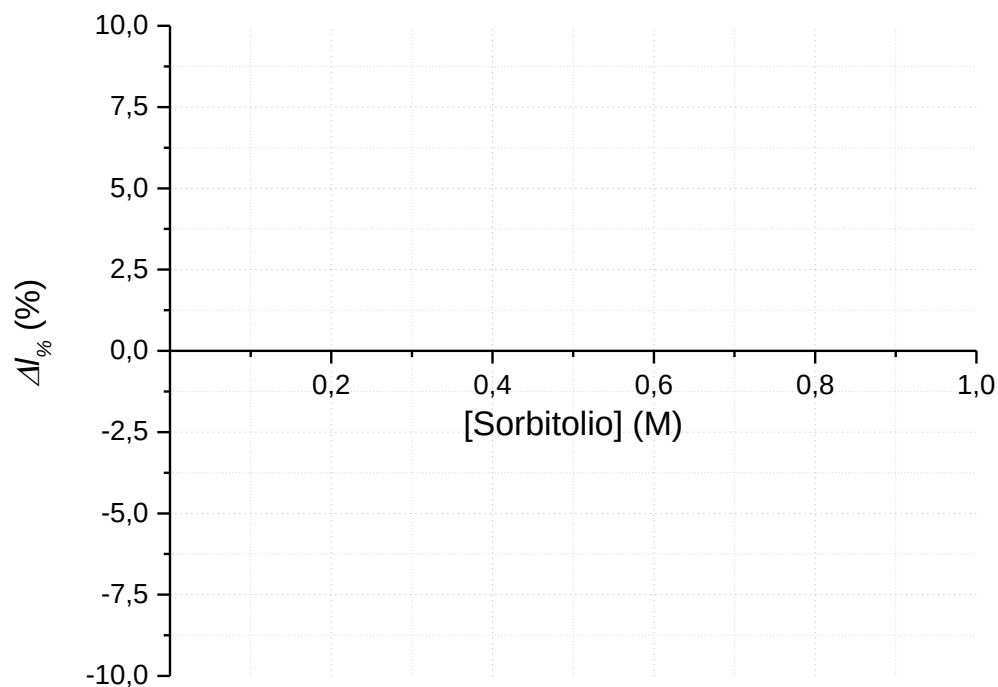
l_0 – pradinis lazdelės ilgis;

l – lazdelės ilgis po eksperimento.

2 lentelė. Eksperimento su įvairios koncentracijos sorbitolio ir CaCl_2 tirpalais rezultatai.

Tirpalas ir jo koncentracija	Pradinis lazdelės ilgis l_0 [cm]	Lazdelės ilgis l po eksperimento [cm]	Lazdelės ilgio pokytis Δl [cm]	Lazdelės ilgio procentinis pokytis $\Delta l\%$ [%]
...	...	...	...	...

7) Nubraižomas procentinio bulvės stiebagumbio lazdelės ilgio pokyčio priklausomybės nuo panaudoto sorbitolio tirpalo koncentracijos grafikas (1 pav.).



1 pav. Procentinio bulvės stiebagumbio lazdelės ilgio pokyčio $\Delta l\%$ priklausomybės nuo panaudoto sorbitolio tirpalo koncentracijos [Sorbitolio] grafikas

8) Gauta priklausomybė aproksimuojama tiese. Naudojantis gauta tiesine priklausomybe ir 2 formule, apskaičiuojamas bulvės stiebagumbio ląstelių vandens potencialas $\Psi_{\text{ląstelės}}$ pagal tokią sorbitolio tirpalo koncentraciją, kurioje bulvės lazdelės ilgis nepakistų.

$$\Psi_{\text{ląstelės}} = \Psi_s = -R \cdot T \cdot c \cdot i \quad (2 \text{ formulė})$$

R – idealiųjų dujų konstanta; $R = 8,3145 \left[\frac{\text{kJ}}{\text{K} \cdot \text{mol}} \right]$;

T – kambario temperatūra [K];

c – izotoninio tirpalo koncentracija [M];

i – koeficientas, charakterizuojantis medžiagos disociaciją: $i = 1 + \alpha \cdot (n - 1)$, kai α yra elektrolito disociacijos laipsnis, o n – dalelių skaičius tirpinio molekulei patekus į tirpiklį ir disocijavus. Atkreipkite dėmesį, kad sorbitolis vandenyje nedisocijuoja.

9) Palyginamas ir pakomentuojamas tos pačios koncentracijos sorbitolio ir CaCl_2 tirpalų sukeliamas poveikis bulvių stiebagumbių ląstelėms.

10) Rezultatai aptariami, padaromos išvados.

Priedas

Vandens ir medžiagų pernašos per pusiau pralaidžią membraną modeliavimas

1) Atsidaromas tinklalapis

<http://www.netlogoweb.org/launch#http://www.netlogoweb.org/assets/modelslib/Sample%20Models/Chemistry%20&%20Physics/Unverified/Osmotic%20Pressure.nlogo> .

2) Susipažįstama su modeliu, simuliuojančiu vandens ir tirpinio molekulių judėjimą per pusiau pralaidžią membraną (vanduo per ją praeiti gali, tirpinys – ne) einant laikui. Žaliame langelyje „Solute-type“ („Tirpinys“) galima pasirinkti skirtingus tirpinius – sacharozę ($\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$), valgomąją druską (NaCl), magnio chloridą (MgCl_2) arba aliuminio chloridą (AlCl_3). Žaliuose langeliuose „Solute-left“ („Tirpinys kairėje“) ir „Solute-right“ („Tirpinys dešinėje“) slankjuostėmis galima pasirinkti pradinius tirpinio molekulių skaičius (koncentracijas) (nuo 0 iki 100 molekulių) pradiniu laiko momentu. Ilga slankjuostė viršuje „Model speed“ leidžia palėtinti (slenkant į kairę) arba pagreitinti (slenkant į dešinę) simuliacijos greitį. Rekomenduojama naudoti maksimalų greitį. Modelyje laikas matuojamas sutartiniais vienetais („Ticks“). Pasirinkus norimas pradines

sąlygas, spaudžiamas mėlynas mygtukas „Setup“ („Nustatyti“). Tuomet spaudžiamas mėlynas mygtukas „Go“ („Pradėti“) ir simuliacija pradeda. Vandens molekulių skaičiaus kairėje ir dešinėje membranos pusėse kitimą galima sekti geltonuose langeliuose „Water # Left“ ir „Water # Right“ atitinkamai. Analogiškai tirpinio dalelių skaičiaus abiejose membranos pusėse kitimas stebimas geltonuose langeliuose „Solute # Left“ ir „Solute # Right“. Dar kartą paspaudus mygtuką „Go“, modelis laikinai sustabdomas. Norint pakeisti pradinės sąlygas, reikia jas nustatyti ir vėl paspausti mygtuką „Setup“.

3) Pasirenkamas vienas iš tirpinių ir tirpinio molekulių skaičius abiejose membranos pusėse. Atliekama simuliacija bent 150 sutartinių laiko vienetų. Gauti duomenys pateikiami 3 lentelėje.

3 lentelė. Modeliavimo rezultatai

Tirpinys	Simuliacijos trukmė	Tirpinio dalelių skaičius kairėje membranos pusėje simuliacijos pabaigoje („Solute # Left“)	Tirpinio dalelių skaičius dešinėje membranos pusėje simuliacijos pabaigoje („Solute # Right“)	Vandens molekulių skaičius kairėje membranos pusėje simuliacijos pabaigoje („Water # Left“)	Vandens molekulių skaičius dešinėje membranos pusėje simuliacijos pabaigoje („Water # Right“)	Tirpinio dalelių skirtumas abipus membranos	Vandens molekulių skirtumas abipus membranos
...	...	...	...	...	...	...	...

Kontroliniai klausimai

- 1) Kas yra osmosas, kokios šio proceso priežastys?
- 2) Kas yra turgoras, kokia jo reikšmė augalų ląstelėms?
- 3) Kokie procesai vyksta, ląstelėms patekus į hipertoniinę / hipotoniinę aplinką?
- 4) Kas yra vandens potencialas, kokios jo dedamosios?