מבחינת הבגרות במעבדה לעבודת ביוחקר

השתלמות מורים, חנוכה תש"ף

- דצמבר 2019

בצהרי היום....

בחינת בגרות במעבדה כנקודת מוצא לניסוי בביוחקר, האם זה אפשרי?

- פעילות האנזים פוספטאז

למידע נוסף ראו : פעילות האנזים פוספטאז הנוצר בתאים של שורשוני לוביה

פעילות האנזים פוספטאז (1)

- פוספטאז מזרז פירוק תרכובות אורגניות המכילות פוספט, ובהן גם פנול פתלאין פוספט
- תוצרי התהליך הם פוספט (תרכובת אי אורגנית) ופנול פתלאין (תרכובת אורגנית)
- פנול פתלאין, בסביבה חומצית הוא חסר צבע, ובסביבה בסיסית צבעו סגול

זרעי לוביה
במקום
זרעי קישוא

פעילות האנזים פוספטאז (2)

- בעיה 2 תשע"א (עם נבטי לוביה). התאמה לניסוי באתר המרכז
- חלק א1: בדיקת פעילות האנזים בשורשונים מרוסקים של נבטי לוביה

חובה
לעבוד עם
כפפות
ומשקפי
מגן

מס' טיפול / זכוכית	שורשונים מעוכים	פנול פתלאין פוספט	מים מזוקקים	פנול פתלאין	הוספת בסיס לאחר המתנה של 5 דקות	צבע לאחר 5 דקות
1	+	+	--	--	+	סגול
2	+	--	+	--	+	חסר צבע
3	--	+	--	--	+	חסר צבע
4	--	--	--	+	+	סגול

פעילות האנזים פוספטאז (3)

- בשורשונים מעוכים (זכוכית 2) ובתמיסת פנול פתלאין פוספט (זכוכית 3)

לא נוצר פנול פתלאין ולא התקבל צבע סגול (בקרות) + בקרת צבע (זכוכית 4)

- מסקנה:

בשורשוני לוביה יש פוספטאז המזרז את פירוק פנול פתלאין פוספט (זכוכית 1)

דרך נוספת לבדיקת פעילות פוספטאז בשורשוני לוביה (1)

חלק א2:

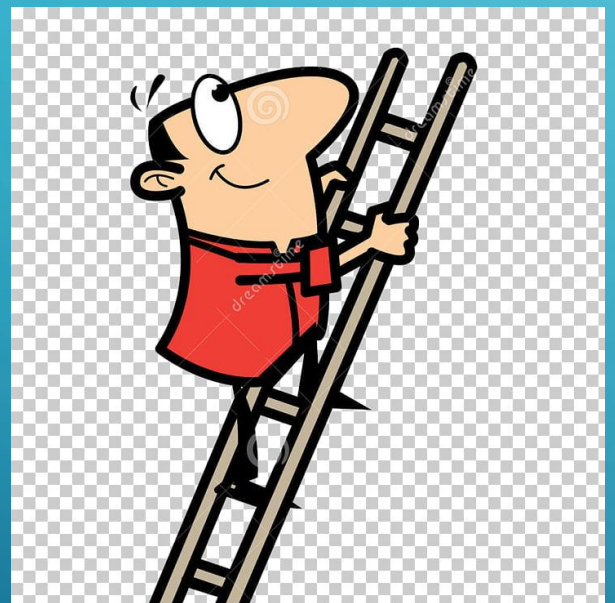
- 2 כלים ובהם אגר (בריכוז נמוך מזה המשמש להכנת קרקע מזון לחיידקים)
- בכלי I הנביטו נבט לוביה, ובכלי II אין נבט
- טפטוף פנול פתלאין פוספט על האגר שבשני הכלים
- לאחר זמן, טפטוף בסיס (נתרן קרבונט) על האגר שבכלים
- צבע האגר שבקרבת השורשונים משתנה לאדום

דרך נוספת לבדיקת פעילות פוספטאז בשורשוני לוביה (2)

- פוספטאז שיצא מתאי השורשונים התפזר בדיפוזיה באגר וזרז את פירוק פנול פתלאין פוספט לפנול פתלאין ולפוספט
- מה ייחודו של האנזים פוספטאז?
  - ✓פוספטאז הוא אחד מהאנזימים המופרשים אל מחוץ לתאים ופעילים בסביבה החוץ תאית (אנזימים אקסטרה צלולריים)

איך מתקדמים מהניסוי לעבודת ביוחקר.....

- הצעות המורים
- בחירת מילות מפתח וחיפוש מידע ברשת (מגבלת שפה)
- איתור מידע בניסוי שיכול להיות רלוונטי לניסוי בביוחקר
  - ✓**תוצאות, מסקנות, קטעי קריאה בפרק ג**
- משיטה איכותית לשיטה כמותית



בעיה 1 חלק ג, תשע"א

"בקרקע מצויות תרכובות אורגניות המכילות פוספט, אך הן אינן זמינות לצמח כי הן אינן נקלטות בשורשים. במינים רבים של צמחים האנזים פוספטאז מופרש מתאי השורשים אל הקרקע. אנזים זה מזרז את פירוק התרכובות האורגניות המכילות פוספט שמצויות בקרקע. אחד מהתוצרים של תהליך הפירוק הוא פוספט אי-אורגני. פוספט אי-אורגני יכול להיקלט בשורשי הצמח.....

חוקרים בדקו את השפעת הריכוז ההתחלתי של תרכובת אורגנית המכילה פוספט על כמות האנזים פוספטאז שהופרשה משורשי צמחים לתמיסת הגידול...."

Three cereals …three legumes (mung bean..) …were grown in solution culture under conditions of P deficiency and with additions of inorganic P or organic P . The plants started secreting acid phosphatase as soon as their roots emerged (24–96 h)…..The activities of the secreted acid phosphatases increased with plant age and were at a maximum under P-deficient conditions.. …The amount of acid phosphatase secreted by legumes was 22% higher than by oilseeds and 72% higher than by cereals. **The results showed that an organic P concentration of 250 mg L^{-1} and above …. provide the most suitable conditions for plants to secrete a maximum amount of acid phosphatase.**

Influence of organic and inorganic phosphorus supply on the maximum secretion of acid phosphatase by plants

במקרה הכינותי מראש ניסוי מקדים...

- **השריה של זרעי לוביה** למשך לילה, הנבטה בבוקר, כדי לקבל שורשונים ביום למחרת.
  אם אין הצצת שורשונים לאחר הלילה, להשאיר לעוד כמה שעות בהשריה.

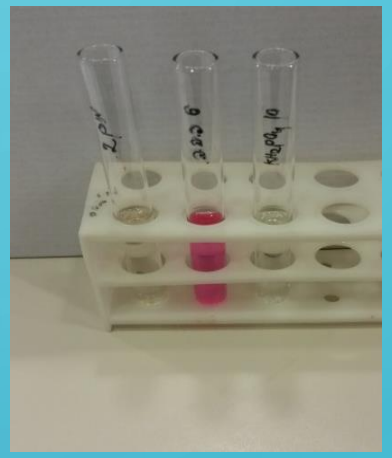
- **הנבטה**, לפזר את הנבטים בכלי שטוח על מצע לח (צמר גפן ומעליו נייר סינון, אפשר לכסות בניילון נצמד לא מהודק) ולהשאירם במשך כיממה או יותר, עד לקבלת נבטים עם שורשונים באורך שמתאים לנעיצתם בגזה

			צבע (לפי סולם צבעים) שהתקבל בבדיקה שבוצעה לאחר זמן 0				
	תכולת הכוסית	תכולת המבחנה	הוספת בסיס	אחרי 6 שעות	אחרי 24 שעות	אחרי 30 שעות	אחרי 48 שעות
סט א	25 מ"ל מים מזוקקים + נבטים	8 מ"ל מהנוזל שבכוסית + 2 מ"ל פנול פתלאין פוספט	+				
סט ב	25 מ"ל תמיסת פנול פתלאין פוספט ריכוז התחלתי 0.2% + נבטים	8 מ"ל מהנוזל שבכוסית + 2 מ"ל מים	+				
סט ג	25 מ"ל תמיסת KH_2PO_4 (מהערכה להכנת בופר פוספט pH=7) ריכוז התחלתי 0.05% + נבטים	8 מ"ל מהנוזל שבכוסית + 2 מ"ל פנול פתלאין פוספט	+				

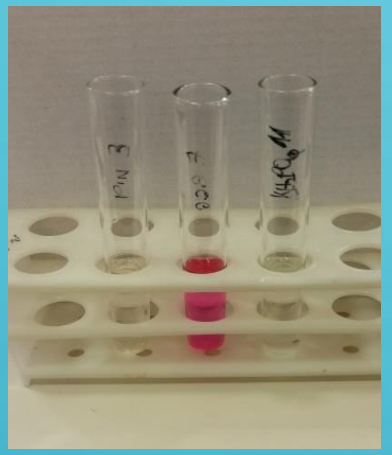
הערה: אם ברשותכם ספקטרופוטומטר אפשר לבדוק את אחוז הבליעה בכל טיפול

השפעת פוספט אורגני ופוספט אי אורגני בתמיסות גידול של נבטי לוביה על הפרשת פוספטאז מהשורשונים

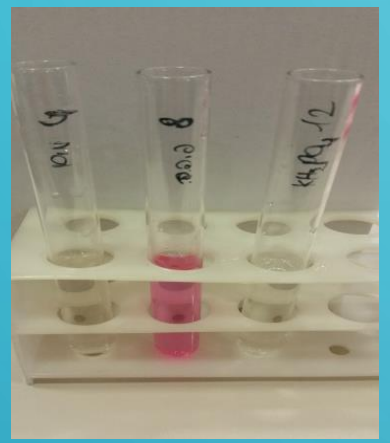
אחרי 6 שעות



אחרי 24 שעות



אחרי 30 שעות



אחרי 48 שעות

ריכוז פוספט אורגני: 0.2% = 2000 מ"ג/ ליטר

ריכוז פוספט אי אורגני: 0.05% = 500 מ"ג /ליטר

שאלות חקר אפשריות

- כיצד משפיע ריכוז פוספט אורגני / פוספט אנאורגני על קצב הפרשת פוספטאז?
- מה הקשר בין התפתחות הנבט ובין הפרשת פוספטאז?
- האם פוספט אורגני משפיע על יצירת פוספטאז או על הפרשתו? (האם אפשר לבדוק במערכת שהוצעה?)

לדיון

- איך אפשר לשלול את ההסבר החלופי על פיו פ.פ.פ. פוגע בקרומי התאים וגורם להם לאבד פוספטאז

פוספטאז מופרש בחיידקים

- הדגמה של 3 פלטות כל אחת נזרעה עם סוג חיידקים שמספקים במרכז
  ***Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, Escherichia coli**
- הוספת פנול פתלאין פוספט + בסיס
- הוראות בטיחות בעבודה במעבדה: חל אסור על גידול חיידקים מן הקרקע
- משמעות ביולוגית לחיידקים בקרקע המפרקים פוספט

סיכום

- מהו התהליך שעובר תלמיד בתקופת גיבוש שאלת החקר? ממצב פסיבי לאקטיבי....?

- *"...אני נוכרת היטב את העבודה שעשינו בביוחקר. אני חושבת שזה באמת היה מודל טוב לחשיפה לעולם המחקרי... (תלמידה שסיימה תואר שלישי במדעי המוח)*