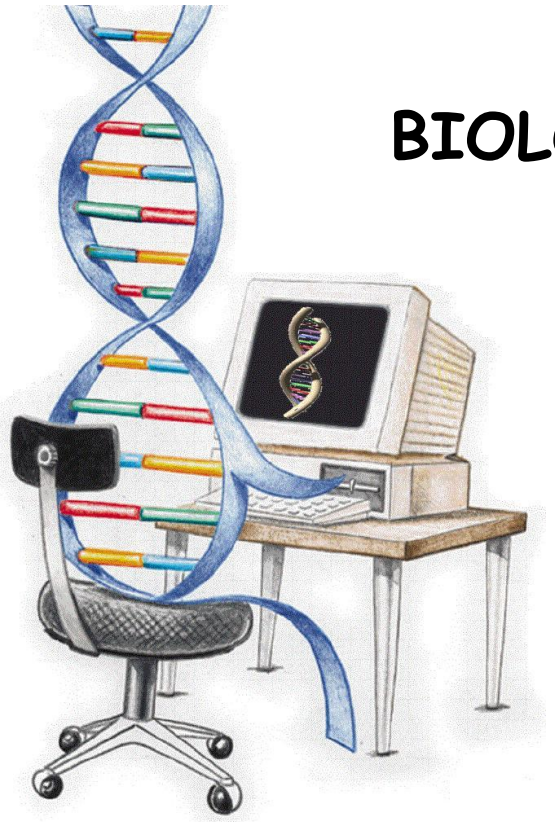
Číslo súťažiaceho:_____
Dátum: _____



BIOLOGICKÁ OLYMPIÁDA

44. ročník

Kategória B
Celoštátne kolo

Praktická časť – laboratórna úloha 02

Milí súťažiaci,

v tejto časti súťaže budete riešiť dve praktické (laboratórne) úlohy - jednu úlohu z fyziológie živočíchov a druhú z fyziológie rastlín. Na vyriešenie každej laboratórnej úlohy máte 80 minút. Najskôr si pozorne prečítajte, čo máte robiť, aby ste si vedeli správne zadeliť čas a rozhodnúť sa, ako budete pri riešení postupovať. Všetky pomôcky máte pripravené na stole. V prípade nejasností sa opýtajte asistenta. Ak Vám nestačí miesto, ktoré je na úlohy určené, použite miesto na konci tejto časti.

Prajeme Vám veľa úspechov!

Slovenská komisia Biologickej olympiády

Fyziológia rastlín

Téma: **Rozdelenie fotosyntetických pigmentov pomocou papierovej chromatografie**

Fotosyntéza je metabolický proces, ktorý umožňuje existenciu života na Zemi. Jej priebeh je závislý na funkcii fotosyntetických pigmentov, ktoré rôznym spôsobom interagujú so svetelným žiarením. Tieto pigmenty môžeme rozdeliť do viacerých tried, ktoré sa líšia chemickou štruktúrou a aj úlohou, ktorú plnia v procese fotosyntézy. Na základe ich chemickej povahy môžeme fotosyntetické pigmenty separovať zo zmesi okrem iného aj metódou papierovej chromatografie. **Chromatografia** je metóda, ktorá umožňuje separovať látky na základe ich rôznej afinity k pohyblivej (mobilnej) a nepohyblivej (stacionárnej) fáze.
V **papierovej chromatografii** je stacionárnou fázou papier a mobilnou fázou rozpúšťadlo. Pigmenty sa budú rôznou mierou rozpúšťať v použitom rozpúšťadle a následne rôznou mierou viazať na papierový nosič, na základe čoho ich môžeme separovať a rozlíšiť. Vašou úlohou bude pripraviť podľa postupu aparatúru na papierovú chromatografiu, uskutočniť separáciu a na základe toho vyhodnotiť prítomnosť pigmentov v skúmanej rastlinnej vzorke. **Pozor!** Použité rozpúšťadlo je vysoko horľavé, preto s ním nemanipulujte v blízkosti plameňa. Zároveň ide o prchavú látku, vyvarujte sa inhalácii pár.

Laboratórna úloha: Papierová chromatografia

Pomôcky: rastlinný materiál (listy mrkvy), rozpúšťadlo (zmes petroléter : acetón : voda v pomere 3:1:1), etanol, strička s destilovanou vodou, piesok, mažiar, 250 ml kadička, pipeta s balónikom, špáradlá, fólia, filtračný papier, nožnice, pravítko, spinkovač

Postup:

1. Z filtračného papiera vystrihnite obdĺžnik takých rozmerov, aby sa po zvinutí do valca vnútri kadičky nedotýkal stien a siahal asi 1 cm pod horný okraj kadičky (obr.1A).
2. Na vystrihnutom obdĺžniku filtračného papiera si asi vo výške 1.5 cm od spodnej časti papiera (ktorá bude ponorená v rozpúšťadle) narysujte vodorovnú čiaru po celej šírke papiera. Rovnakú čiaru nakreslite zhruba 0.5 cm od vrchnej časti papiera.
3. Dva asi 5 cm dlhé listy mrkvy natrhajte na kúsky a dôkladne rozotrite v mažiari spolu s trochou piesku a asi 1 ml etanolu a 1 ml vody.
4. Pomocou širšieho konca špáradla naneste listový extrakt z mažiara na filtračný papier (obr.1). Extrakt nanášajte na líniu, ktorá je nakreslená 1.5 cm od spodného okraja tak, aby Vám vznikla čo najkoncentrovanejšia škvrna, na jedno miesto preto nanášajte viackrát (aspoň 3). Tento postup zopakujte ešte trikrát, pričom zakaždým naneste novú škvrnu o 0,5 cm ďalej ako predošlú. Výsledkom by mali byť 4 škvrny vzdialené navzájom asi 0.5 cm, nanesené na spodnej línii, čo najďalej od okrajov filtračného papiera (obr.1B).
5. Extrakt na papieri nechajte vyschnúť. Pred umiestnením do aparatúry musí byť filtračný papier úplne suchý.
6. Obdĺžnik filtračného papiera zviňte do valca a okraje upevnite spinkovačom. Do 250 ml kadičky nalejte rozpúšťadlo zhruba do výšky 0.7 cm (asi 15 ml rozpúšťadla). Umiestnite valec filtračného papiera s nanesenou vzorkou do kadičky s rozpúšťadlom. Línia so vzorkou nesmie byť ponorená v rozpúšťadle! Kadičku prikryte fóliou a nechajte bežať chromatogram. Fólia musí úplne priliehať k stenám kadičky, inak by chromatogram mohol vyschnúť. Čas zbehnutia chromatogramu využite na vypracovanie ďalších úloh.

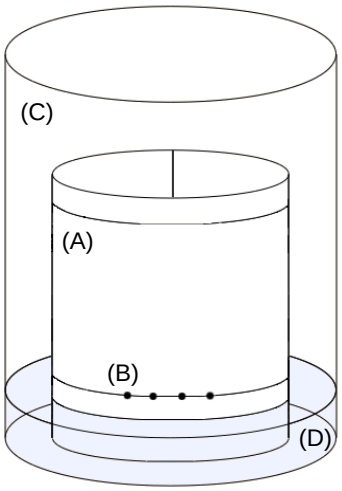
7. Po približne 20 minútach by mal byť chromatogram zbehnutý. Uvedený čas je len odhad, riaďte sa tým, že rozpúšťadlo musí dosiahnuť hornú líniu nakreslenú 0.5 cm pod okrajom papiera. Keď rozpúšťadlo dosiahne túto líniu, odokryte fóliu a chromatogram vyberte. Pozor! Pozorne sledujte, kedy rozpúšťadlo dosiahne hornú líniu (čelo), nenechajte chromatogram bežať dlhšie. Dávajte pozor aj na to, aby Vám chromatogram počas bežania nevyschol. Podstatné je, aby sa Vám odseparovali všetky zložky. Do protokolu zaznamenajte :

vzdialenosť medzi líniami (štart - čelo):

farbu škvŕn (od najspodnejšej) a ich vzdialenosť od štartu:

1.
2.
3.
4.

ďalšie škvrny:



Obr.1: Papierový valec (A) s nanesenou vzorkou (B) umiestnený v kadičke (C) s rozpúšťadlom (D)

Chromatogram ihneď po zaznamenaní hodnôt odovzdajte vedúcemu praktickej úlohy.

Na základe chemickej povahy fotosyntetických pigmentov, vzdialenosti škvrny od štartu a farby škvŕn určite, akým pigmentom zodpovedajú jednotlivé škvrny. Svoje rozhodnutie **odôvodnite**.

1. úloha: Na procese fotosyntézy sa v rastlinnom organizme podieľajú aj nezelené pigmenty. Uveďte, akú úlohu plnia v rastlinnom organizme a v procese fotosyntézy. Prečo ich pri pohľade na zelený list rastliny nevidno?

2. úloha: Vyplňte nasledujúcu tabuľku. V prvom stĺpci sú uvedené konkrétne rastlinné hormóny. Do druhého stĺpca doplňte, do akej triedy rastlinných hormónov daná látka patrí alebo u označených látok uveďte len plný názov. V treťom stĺpci priraďte k triede hormónov funkciu, ktorú plní v rastlinnom tele (pre každú triedu priraďte jednu funkciu). Zoznam funkcií a tried hormónov, ktoré treba priradiť, je uvedený pod tabuľkou.

Látka	Trieda hormónov/celý názov látky	Funkcia v rastlinnom organizme
IAA		
$CH_2 = CH_2$*		
GA_3		
ABA*		
Brassinolid		
Zeatín		

* u týchto látok uveďte namiesto triedy hormónov iba plný názov látky

Funkcie: podpora dozrievania plodov; stimulácia delenia buniek a efekt spomaleného starnutia; fototropizmus; zatváranie prieduchov pri nedostatku vody; stimulácia klíčenia semien pri dostatku vody; podpora delenia a predlžovacieho rastu buniek stonky

Triedy hormónov/názov: giberelíny, auxíny, cytokiníny, brassinosteroidy, kyselina abscisová, etylén

3. úloha: Svetlo nepredstavuje pre rastliny iba zdroj energie, ale je aj významným faktorom ovplyvňujúcim procesy v rastlinnom organizme. Podobne ako pri fotosyntéze, aj na týchto procesoch sa zúčastňujú rôzne pigmenty.

a) Jednou skupinou takýchto pigmentov sú kryptochrómy. Uveďte, na ktorú časť viditeľného svetelného spektra reagujú.

b) Popíšte mechanizmus, ktorým červené a infračervené svetlo vplýva na klíčenie semien, uveďte, ktorý pigment sa tohto procesu zúčastňuje a popíšte jeho úlohu v tomto mechanizme.

c) S vplyvom svetla na vývin rastliny súvisí aj proces, ktorý sa nazýva etiolizácia. Vysvetlite tento termín a uveďte najmenej päť znakov etiolovaných rastlín, ktorými sa odlišujú od rastlín s normálnym vývinom.

Poznámky: