

**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟ ΚΕΝΤΡΟ ΦΥΣΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ Ν.
ΜΑΓΝΗΣΙΑΣ (Ε.Κ.Φ.Ε)
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ**

**Θέμα: ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΗ ΣΤΟΜΑΤΩΝ ΦΥΛΛΩΝ,
ΚΑΤΑΦΡΑΚΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΚΑΙ ΧΛΩΡΟΠΛΑΣΤΩΝ**

(άσκηση 4 του εργαστηριακού οδηγού)

Μέσος χρόνος πειράματος: 45 λεπτά

A. ΑΝΑΛΩΣΙΜΑ



Ø Εργαλεία	Ø Υλικά	Ø Διαλύματα - Χρωστικές
§ <i>Οπτικό μικροσκόπιο</i>	§ <i>Αντικειμενοφόρος</i>	§ <i>Χρωστική Lugol</i>
	§ <i>Καλυπτρίδα</i>	§ <i>Απιονισμένο νερό</i>
	§ <i>Λαβίδα</i>	
	§ <i>Σταγονόμετρο</i>	
	§ <i>Διηθητικό χαρτί</i>	
	§ <i>Βελόνα ανατομίας</i>	
	§ <i>Φρεσκοκομμένα φύλλα, από παχύφυλλο φυτό</i>	

B. ΣΚΟΠΟΙ

1. Η παρατήρηση στομάτων στην επιδερμίδα φύλλων διαφόρων φυτών και η διαπίστωση διαφορών σ' αυτά
2. Η παρατήρηση καταφρακτικών κυττάρων
3. Η παρατήρηση των χλωροπλαστών που υπάρχουν σ' αυτά.

Γ. ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΕΣ ΓΝΩΣΕΙΣ

Τα φυτά, με την διαδικασία της **φωτοσύνθεσης**, μετατρέπουν ανόργανες ενώσεις (νερό, διοξείδιο του άνθρακα) σε οργανικές ενώσεις με τη βοήθεια της φωτεινής ενέργειας οπότε η ενέργεια αυτή δεσμεύεται με τη μορφή χημικής ενέργειας στις οργανικές ενώσεις που σχηματίζονται. Το διοξείδιο του άνθρακα εισέρχεται στο φυτό από τα στόματα των φύλλων ενώ το νερό από τις ρίζες του φυτού. Η χλωροφύλλη (πρόκειται για μια ολόκληρη ομάδα χρωστικών ουσιών, που προσδίδουν το πράσινο χρώμα σχεδόν σε όλα τα φυτά, περιέχονται στα οργανίδια των φυτικών κυττάρων που

ονομάζονται χλωροπλάστες) δεσμεύει ένα μέρος από τη φωτεινή ενέργεια του ήλιου. Το νερό και το διοξείδιο του άνθρακα σχηματίζουν χημικές ενώσεις, τα σάκχαρα. Το οξυγόνο που σχηματίζεται φεύγει στον αέρα από τα στόματα των φύλλων.

Αναπνοή είναι η λειτουργία με την οποία το φυτό προσλαμβάνει οξυγόνο από τον αέρα (κυρίως από τα στόματα και την επιδερμίδα των φύλλων) και αποβάλλει διοξείδιο του άνθρακα (επίσης από τα στόματα και την επιδερμίδα). Η αναπνοή γίνεται σε όλη τη διάρκεια του εικοσιτετραώρου. Στις ρίζες και στο πράσινο μέρος του βλαστού η αναπνοή γίνεται από την επιδερμίδα τους.

Κατά την αναπνοή το οξυγόνο (λιγότερο από αυτό που παράγεται κατά τη φωτοσύνθεση) χρησιμοποιείται για τις καύσεις των οργανικών ενώσεων από τις οποίες ελευθερώνεται ενέργεια για τις διάφορες λειτουργίες του φυτού.

Διαπνοή είναι η διαδικασία της αποβολής του πλεονάζοντος νερού από τα στόματα των φύλλων. Με την διαδικασία της διαπνοής το νερό μπορεί και απορροφάται από το έδαφος, με τις ρίζες του φυτού, μεταφέροντας διαλυμένες διάφορες ουσίες μέσω του ξυλώματος, οι θρεπτικές ουσίες που σχηματίζονται στα φύλλα με τη φωτοσύνθεση και διαλύονται και αυτές στο νερό μεταφέρονται με το φλοιώμα σε όλο το φυτό για να το θρέψει ενώ ρυθμίζεται και η θερμοκρασία των φύλλων, από την ψύξη που προκαλείται κατά την αποβολή του νερού.

Ολόκληρη η επιφάνεια ενός φύλλου καλύπτεται από την επιδερμίδα. Μεταξύ της πάνω και κάτω επιδερμίδας βρίσκεται το μεσόφυλλο. Τα επιδερμικά κύτταρα παραμένουν πάντοτε στενά συνδεδεμένα μεταξύ τους και οι μόνοι μεσοκυττάριοι χώροι της επιδερμίδας είναι οι στοματικοί πόροι (**στόματα**). Τα περισσότερα επιδερμικά κύτταρα δε φέρουν χλωροφύλλη. Η εναπόθεση υμενίνης στο εξωτερικό τους δημιουργεί την εφυμενίδα, μια συνεχή στιβάδα που καλύπτει τα φύλλα και περιορίζει την απώλεια νερού, ενώ παράλληλα αντανακλά μέρος της υπεριώδους ακτινοβολίας. Τα στόματα των φύλλων είναι επιδερμικοί σχηματισμοί που εξυπηρετούν την ανταλλαγή των αερίων κατά της λειτουργίες της φωτοσύνθεσης, αναπνοής και διαπνοής. Αποτελούνται από ένα φακοειδή μεσοκυττάριο χώρο (στοματικός πόρος), από 2 εξειδικευμένα επιδερμικά κύτταρα μεταξύ των οποίων αναπτύσσεται ο στοματικός πόρος (καταφρακτικά κύτταρα) και από διαφοροποιημένα επιδερμικά κύτταρα που εφάπτονται των καταφρακτικών (παραστοματικά ή βοηθητικά κύτταρα).

Σε ορισμένες περιπτώσεις που απουσιάζουν τα περιβάλλοντα ή και τα παραστοματικά κύτταρα τα δύο καταφρακτικά κύτταρα μαζί με το στοματικό πόρο περιγράφονται με τον όρο στόμα.

Όταν ένα φυτικό κύτταρο βρεθεί σε νερό, το οποίο θεωρείται υποτονικό διάλυμα, ο όγκος του αυξάνεται και ταυτόχρονα πέφτει η ωσμωτική του πίεση, λόγω αραιώσης με την είσοδο του νερού. Με τη διόγκωση όμως του κυττάρου, το τοίχωμά του τεντώνεται πράγμα που συνεπάγεται μια ελαστική τάση της μεμβράνης που λέγεται **σπαργή** (turgid) αντίθετης κατεύθυνσης προς την ωσμωτική πίεση. Η ώσμωση αναστέλλεται, όταν η ελαστική τάση των τοιχωμάτων του κυττάρου εξισορροπήσει την ωσμωτική πίεση. Το φαινόμενο αυτό της διόγκωσης του φυτικού κυττάρου ονομάζεται **σπάργωση**.

Βασικό δομικό χαρακτηριστικό των **καταφρακτικών κυττάρων** είναι οι ισχυρές παχύνσεις των τοιχωμάτων τους που συμμετέχουν στο μηχανισμό ανοίγματος και κλεισίματος του στοματικού πόρου.

Η αύξηση της πίεσης σπαραγής που προκαλείται από την ωσμωτική είσοδο νερού από τα γειτονικά κύτταρα, έχει ως αποτέλεσμα την καμπύλωση των τοιχωμάτων των καταφρακτικών κυττάρων με άμεση συνέπεια το άνοιγμα του στοματικού πόρου (επειδή τα καταφρακτικά κύτταρα έχουν παχύτερο κυτταρικό τοίχωμα σε μία μόνο πλευρά τους, γύρω από το στοματικό πόρο). Όταν μειωθεί η σπαραγή, τα καταφρακτικά κύτταρα επανακτούν την αρχική μορφή τους και ο στοματικός πόρος κλείνει. Η πίεση σπαραγής των καταφρακτικών κυττάρων επηρεάζεται από έναν αριθμό περιβαλλοντικών παραγόντων όπως το φως, η συγκέντρωση του διοξειδίου του άνθρακα, η υγρασία και η θερμοκρασία. Στα καταφρακτικά κύτταρα εντοπίζονται χλωροπλάστες, είναι όμως μικρότεροι από εκείνους του μεσόφυλλου. Η παρουσία των χλωροπλαστών ωστόσο δικαιολογείται γιατί θα μπορούσαν να αποτελούν σημαντική πηγή ενέργειας για τα κύτταρα αυτά. Σύμφωνα με μια θεωρία, όταν υπάρχει ηλιοφάνεια η συγκέντρωση των κατιόντων καλίου (K⁺) αυξάνεται στα καταφρακτικά κύτταρα. Το γεγονός αυτό σε συνδυασμό με τα σάκχαρα που παράγονται από τη φωτοσύνθεση, μειώνει το υδατικό δυναμικό στα καταφρακτικά κύτταρα. Σαν αποτέλεσμα, νερό από τα γειτονικά κύτταρα εισέρχεται στα καταφρακτικά με ώσμωση με αποτέλεσμα να έχουμε την αύξηση της πίεσης σπαραγής.

Οι **χλωροπλάστες** είναι είδος πλαστιδίων που περιέχουν χλωροφύλλη και βρίσκονται μέσα στα κύτταρα και τους βλαστούς των φυτών. Η χλωροφύλλη φέρεται στοιβαγμένη σε μορφή κόκκων, που βρίσκονται στα τοιχώματα πεπλατυσμένων σάκων που ονομάζονται "ελάσματα" ή "θυλακοειδή". Τα ελάσματα αυτά βρίσκονται πολύ κοντά μεταξύ τους σε ορισμένα σημεία προκειμένου να σχηματίσουν φωτοσυνθετικούς κόκκους. Πιστεύεται ότι οι αντιδράσεις φωτός της φωτοσύνθεσης γίνονται μέσα σ' αυτούς τους κόκκους, ενώ οι σκοτεινές αντιδράσεις στην υδατώδη μήτρα που περιβάλλει τα ελάσματα των χλωροπλαστών.

Δ. ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ & ΣΥΜΒΟΥΛΕΣ

Για να είναι ανοιχτά τα στόματα της επιδερμίδας, καλό είναι το φύλλο που χρησιμοποιούμε να είναι τρυφερό και φρεσκοκομμένο. Αν χρειαστεί να το διατηρήσουμε κομμένο, το τοποθετούμε σε λίγο νερό για να το κρατήσει δροσερό και να ανοίξουν τα στόματα. Περισσότερα στόματα υπάρχουν, κατά κανόνα, στις κάτω επιφάνειες των φύλλων.

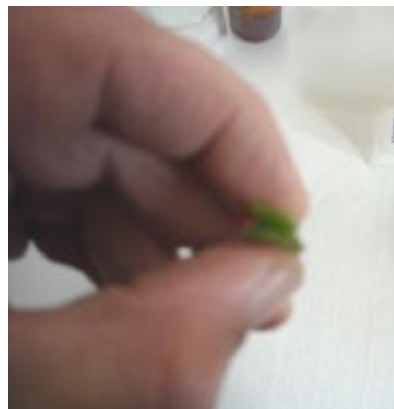
Ε. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ

Η διαδικασία είναι η εξής:

1. Κόβουμε ένα φύλλο όσο το δυνατόν πιο παχύ.



2. Σπάμε το φύλλο με κατεύθυνση προς την κάτω πλευρά...



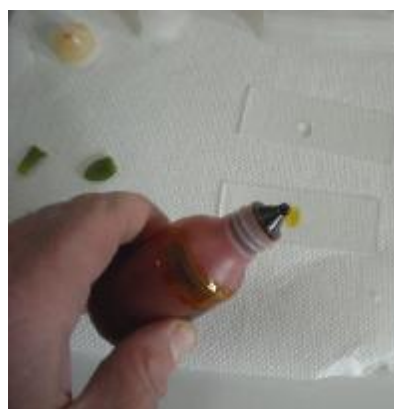
3. ...προσέχοντας να μην σπάσει και η επιδερμίδα του.



4. Χρησιμοποιώ δύο αντικειμενοφόρες πλάκες. Στη μία ρίχνω μια σταγόνα απεσταγμένο νερό...



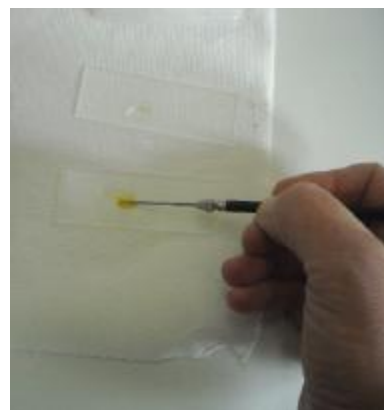
5. ...και στην άλλη μια σταγόνα χρωστικής Lugol.



6. Με μια λαβίδα παίρνουμε δυο μικρά κομμάτια από την επιδερμίδα της κάτω επιφάνειας και τα τοποθετούμε μέσα στη σταγόνα που ρίξαμε σε κάθε αντικειμενοφόρο πλάκα.



7. Με την βοήθεια μιας ανατομικής βελόνας, φροντίζουμε ώστε τα δύο δείγματα να μην είναι διπλωμένα.



8. Καλύπτουμε το κάθε δείγμα με καλυπτρίδα. Κατεβάζουμε την καλυπτρίδα με την βοήθεια της ανατομικής βελόνας, σιγά-σιγά, ώστε να δημιουργηθούν όσο το δυνατόν λιγότερες φυσαλίδες στο δείγμα που ετοιμάσαμε.

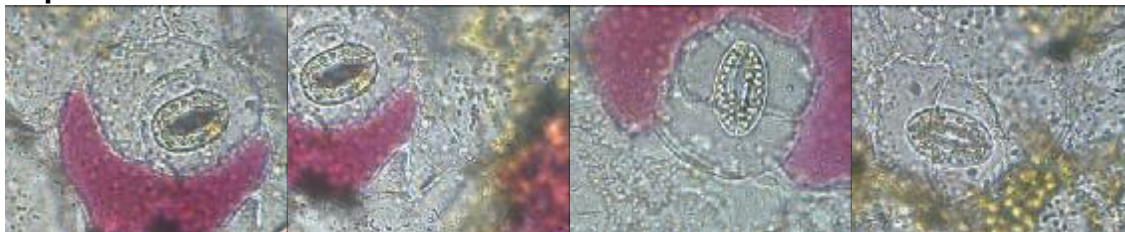


9. Τα δείγματα είναι έτοιμα για μικροσκόπηση.



10. Ξεκινούμε τη μικροσκόπηση από την μικρότερη μεγέθυνση.

Τι πρέπει να δω:



Υπάρχουν στόματα ανοικτά, αλλά και άλλα που είναι κλειστά.

Επαναλαμβάνουμε τη διαδικασία, με επιδερμίδα από την πάνω πλευρά του φύλλου.