

Podzim se blíží ke konci, barevné listí už pomalu mizí a hnědne na zemi. Pojd'me si zavzpomínat na zlato-oranžové časy a prozkoumat paletu podzimu víc zblízka.

Úloha 1: Chromatografie listových barviv

V této úloze bude vaším úkolem pomocí tenkovrstvé chromatografie pozorovat barviva a rozdíly v jejich obsahu u listů stálezelených a opadavých stromů.

Pomůcky

3x vzorek listů
CaCO₃
jemný písek
ethanol
stříčka s acetonem
nůžky
třecí miska s tloučkem
lžička
3 x kapátko/kapilára
pipeta
filtrační aparatura (nálevka, stojan, filtrační kruh, filtrační papír)
filtrační papír
3x malá kádinka
velká kádinka
lihový fix
tužka a pravítko
hodinová sklíčka

Postup

Dodržujte pravidla bezpečné práce a nezapomínejte na použití ochranných pomůcek (plášť, brýle). Kapalné odpady vylévejte do vyčleněné nádoby. Z časových důvodů je třeba zpracovávat všechny 3 vzorky zároveň - dbejte, aby nedošlo ke kontaminaci.

1. Nejprve si přichystejte filtrační aparaturu a odložte ji stranou.
2. Do třecí misky nastříhejte nadrobno hrstku listů jednoho vzorku, přidejte lžičku uhlíčitánu vápenatého a lžičku jemného písku. Tuto směs důkladně rozetřete až do vzniku zelené kaše.
3. Do vzniklé kaše přilijte pipetou 5 ml acetonu pořádně promíchejte.
4. Čistou malou kádinku označte číslem vzorku, který do ní přefiltrujete.

5. Filtrační papír v nálevce nejdřív namočte acetonem ze stříčky. Poté směs přefiltrujte do označené kádinky - směs lijte do nálevky přes skleněnou tyčinku.
6. Takto připravte extrakt všech tří vzorků.
7. Připravte si 3 proužky filtračního papíru o zadaných rozměrech.
8. 2 cm od dolní hrany papíru narýsujte tužkou startovní čáru - rovnoběžně s kratší hranou papíru.
9. Na horní stranu filtračního papíru tužkou napište číslo vzorku, pro který jej použijete.
10. Pomocí kapátka naneste extrakt ze vzorku po celé šířce papíru. Vzorek se snažte nanést v co nejtěsnější souvislé linii podél vyznačené startovní čáry. Skvrnu nechte zaschnout.
11. Do velké kádinky nalijte ethanol do výšky zhruba 1 cm. Tato kádinka bude vaší vyvíjecí nádobou.
12. *NEŽ VLOŽÍTE PAPIRY DO VYVÍJEJÍCÍ NÁDOBY, VYČKEJTE NA POKYN ORGANIZÁTORŮ.*
13. Do připravené vyvíjecí nádoby vložte jednotlivě kolmo ke dnu filtrační papíry s naneseným extraktem. Pozor: hladina ethanolu se nesmí dotýkat startovní čáry s barvivou a jednotlivé papíry by od sebe měly být co nejdál.
14. Přikryjte nádoby hodinovým sklíčkem a nechte po daný čas vyvíjet.
15. Filtrační papíry vyjměte z kádinek a dříve než zaschnou, vyznačte tužkou rovnou čarou čelo rozpouštědla (nejdál kam došlo rozpouštědlo - za ním už je zbytek papíru suchý)

Do obdélníků v pracovním listu zaznačte proužky výsledku chromatografie, Popište jednotlivé pruhy barvou a názvem barviva, o které se jedná. V určení vám může pomoci tabulka s R_f hodnotami barviv níže.

V tenkovrstvé chromatografii můžeme spočítat pro každou složku směsi tzv. retenční faktor R_f . Jde o poměr mezi vzdáleností pruhu dané látky od začátku a vzdáleností čela rozpouštědla od začátku. R_f závisí na prostředí (druh mobilní i stacionární fáze, fyzikální podmínky...), ve kterém chromatografie probíhá, ve stejném prostředí by však pro stejnou látku měl vyjít vždy stejně.

Barviva	Hodnota R_f
Chlorofyl a	
Chlorofyl b	
Feofytin	
Beta karoten	
Xantofyly	
Antokyany	

Tabulka 1: Hodnoty R_f rostlinných barviv získaných za použití filtračního papíru a ethanolu

Otázky

1. Která barviva chybí/přebývají ve vzorku 2 oproti vzorku 1?
2. Jakou úlohu mají v listech barviva pozorovaná ve vzorku 1?
3. Jaké barvivo je přítomno pouze ve vzorku 3 a způsobuje jeho červeno-fialovou barvu? Čím se toto barvivo liší od všech ostatních barviv zmíněných v této úloze?
4. Co je tedy, na základě pozorování vzorků, příčinou barvení listů na podzim?
5. Proč je pro stromy výhodné listy na zimu shodit? *(více možných odpovědí)*
 - a) Rostliny nemohou přežít zamrznutí, když obsahují vodu.
 - b) Stromy tak minimalizují ztráty vody, která je v zimě málo dostupná.
 - c) Stromy se tak brání kavitaci - zamrznutí vody a vytvoření bublin v cévních svazcích.
 - d) Ostré zimní Slunce by poškodilo fotosyntetický aparát listu.
 - e) Listy by se v zimě staly vyhledávaným cílem predace.
 - f) Spotřebují méně energie ohříváním listů a získají tak konkurenční výhodu oproti neopadavým stromům.
6. Které procesy se podílejí na opadu listů? *(více možných odpovědí)*
 - a) nekróza
 - b) hromadění zásobních látek v listu
 - c) rozpad buněčných struktur (organely, proteiny, fotosyntetický aparát)
 - d) syntéza oranžových barviv
 - e) apoptóza
 - f) odčerpávání látek do těla rostliny
7. Jak se nazývá stav, do kterého vstupují stromy na zimu?

Úloha 2: Pozorování průduchů

Průduchy hrají velkou roli v regulaci výdeje vody rostlin. Pomocí mikroreliefové metody, se podíváme na stomata - průduchy jehličnanů a listnáčů a pokusíme se najít rozdíly mezi nimi.

Pomůcky

vzorky listů a jehlic
bezbarvý lak na nehty
průhledná lepící páska
podložní sklíčka
nůžky
mikroskop

Postup

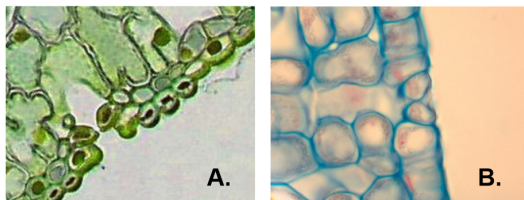
Mikroreliefová metoda nám umožňuje pozorovat povrch neprůhledných objektů – v našem případě epidermis listu. Vytvoříme její otisk a ten potom budeme pozorovat.

1. Na spodní stranu listu a jehlice naneste tenkou vrstvu průhledného laku.
2. Po zaschnutí nalepte na lak čtvereček izolepy a opatrně sejměte.
3. Izolepu s lakem nalepte na podložní sklíčko - označte sklíčko podle otisku, který na něj lepíte.
4. Pozorujte preparát pod mikroskopem.
5. Po skončení práce izolepu odlepte a sklíčka očistěte.

Do pracovního listu nakreslete pozorované mikroreliefy.

Otázky

1. Popište rozdíly mezi průduchy vzorků (velikost, četnost, umístění, uspořádání...)
2. Rozdíly mezi průduchy jehličnanů a listnatých stromů jsou dobře patrné i na příčném řezu. Ten ale dělat nebudeme, postačí nám tyto dva obrázky



Jaký je hlavní rozdíl v umístění průduchů na obrázku? Na kterém obrázku je průřez listem jehličnanu?

3. Jehličnany na zimu listů neshazují, jak jinak se tedy brání problémům, které opadem listů řeší listnaté stromy (alespoň jeden způsob)?