

ΤΟΠΙΚΟΣ ΔΙΑΓΩΝΙΣΜΟΣ EUSO 2014

ΕΚΦΕ ΘΗΡΑΣ

ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΜΑΘΗΤΩΝ - ΒΙΟΛΟΓΙΑ

Μαθητές:	Σχολείο
1.	
2.	
3.	

- 1. Κυτταρική αναπνοή στο μύκητα *Saccharomyces cerevisiae*.**
- 2. Παράγοντες που επηρεάζουν το ρυθμό της ανάπτυξης και της κυτταρικής αναπνοής του μύκητα.**
- 3. Μικροσκοπική παρατήρηση του μύκητα και της αναπαραγωγής του με εκβλάστηση.**

Εισαγωγή – Επισημάνσεις από τη θεωρία

Στην καθημερινότητά σας καταναλώνετε ψωμί, το Πάσχα τσουρέκια, ενώ μαζί με τους γονείς σας γιορτάζετε τα γενέθλιά σας τσουγκρίζοντας ποτήρια με κρασί ή μύρα. Πολλοί από σας ίσως γνωρίζετε ότι η παραγωγή του ψωμιού, του κρασιού και της μύρας στηρίζεται σε ένα σκέλος του *μεταβολισμού* μιας κατηγορίας μυκήτων που ονομάζονται *ζυμομύκητες*. Ο ζυμομύκητας του είδους *Saccharomyces cerevisiae* είναι ένας μονοκύτταρος μύκητας, που έχει σχήμα σφαιρικό ή ωοειδές, η πλασματική μεμβράνη του περιβάλλεται από κυτταρικό τοίχωμα και διαθέτει πυρήνα, είναι δηλαδή ευκαρυωτικός μικροοργανισμός.

Οι ζυμομύκητες αναπαράγονται μονογονικά με εκβλάστηση κατά την οποία σε κάποιο σημείο της μεμβράνης του μητρικού κυττάρου δημιουργείται ένα εξόγκωμα, το εκβλάστημα. Το εκβλάστημα συνεχίζει να αυξάνεται και όταν ολοκληρωθεί η ανάπτυξή του αποκόπτεται συνήθως από το μητρικό κύτταρο.

Ο μύκητας *Saccharomyces cerevisiae* είναι *ετερότροφος* μικροοργανισμός. Για την κάλυψη των ενεργειακών αναγκών του μπορεί να διασπά οργανικές ενώσεις όπως μονοσακχαρίτες (γλυκόζη, φρουκτόζη), δισακχαρίτες (σακχαρόζη) και πολυσακχαρίτες (άμυλο), τόσο παρουσία (αερόβια αναπνοή) όσο και απουσία

οξυγόνου (αναερόβια αναπνοή). Κατά την αερόβια αναπνοή τα σάκχαρα διασπώνται σε διοξείδιο του άνθρακα (αέριο) και νερό, ενώ παράγεται και ενέργεια. Όταν όμως η διαθεσιμότητα του οξυγόνου είναι περιορισμένη τα σάκχαρα διασπώνται με τη διαδικασία της αλκοολικής ζύμωσης (αναερόβια αναπνοή), κατά την οποία παράγονται αιθανόλη (οινόπνευμα), διοξείδιο του άνθρακα (αέριο) και μικρότερα ποσά ενέργειας συγκρινόμενα με εκείνα της αερόβιας αναπνοής. Στην παραγωγή του κρασιού, για παράδειγμα, ο μύκητας αρχίζει να διασπά τα σάκχαρα του μούστου (χυμός από τα σταφύλια) παρουσία οξυγόνου και όταν το οξυγόνο καταναλωθεί ξεκινά η αλκοολική ζύμωση, μέχρι να παραχθεί τέτοια ποσότητα αιθανόλης η οποία αναστέλλει την ανάπτυξη του μύκητα.

Ο πληθυσμός και το είδος των μυκήτων, η συγκέντρωση και η ποιότητα των διαθέσιμων σακχάρων αλλά και η θερμοκρασία είναι παράγοντες που επηρεάζουν καθοριστικά τη διαδικασία της αερόβιας και αναερόβιας κυτταρικής αναπνοής και την ποιότητα του τελικού προϊόντος, δηλαδή του ψωμιού του κρασιού και της μπύρας.

Δοκιμασία μπλε του μεθυλενίου: Το μπλε του μεθυλενίου είναι ένας δείκτης, η οξειδωμένη μορφή του οποίου έχει χρώμα μπλε, ενώ η ανηγμένη λευκό. Η σταδιακή κατανάλωση του οξυγόνου και η συσσώρευση αναγωγικών προϊόντων από το μεταβολισμό των μικροοργανισμών οδηγεί στη σταδιακή αναγωγή του μπλε του μεθυλενίου με αποτέλεσμα το διάλυμα ανάπτυξης των μικροοργανισμών να αποχρωματίζεται (ανοιχτότερες αποχρώσεις του μπλε έως και λευκό). Επομένως, με τη δοκιμασία αυτή, μπορούμε να διαπιστώνουμε την παρουσία μικροοργανισμών σε ένα διάλυμα και το ρυθμό του μεταβολισμού τους, καθώς ο βαθμός αποχρωματισμού του μπλε του μεθυλενίου είναι ανάλογος του μικροβιακού φορτίου και του μεταβολικού ρυθμού των μικροοργανισμών που υπάρχουν στο διάλυμα που μελετάμε.

Όργανα και υλικά που θα χρειαστούν

ΟΡΓΑΝΑ ΚΑΙ ΥΛΙΚΑ	
Μικροσκόπιο	Ξηρή μαγιά
Αντικειμενοφόρες πλάκες	Ζάχαρη
Καλυπτρίδες	Κρασί
Ανατομική βελόνα, λαβίδα	Μπλε του μεθυλενίου

Σταγονόμετρο	Νερό βρύσης στους 16° C
Ποτήρια ζέσης	Νερό βρύσης στους 37° C
Χρονόμετρο	Πλαστικά κουταλάκια
Δοκιμαστικοί σωλήνες	Αυτοκόλλητες ταινίες
Στήριγμα δοκιμαστικών σωλήνων	Απορροφητικό χαρτί κουζίνας
Μεζούρες (λευκό καπάκι)	Μαρκαδόρος
Υδατόλουτρο στους 16° C σε ποτήρι ζέσης	
Υδατόλουτρο στους 37° C	
Γυάλινοι αναδευτήρες	

Πειραματική διαδικασία

1^η ΑΣΚΗΣΗ

1. Τοποθετείτε **έξι** (6) μεγάλους δοκιμαστικούς σωλήνες στο στήριγμά τους. (Έχουν όλοι μια πράσινη χαραγή).
2. Αριθμήστε από το 1 ως το 6 τους δοκιμαστικούς σωλήνες με το μαρκαδόρο.
3. Βάλτε **μαγιά** στο **λευκό καπάκι** μέχρι τη χαραγή και προσθέστε τη μαγιά σε κάθε ένα από τους δοκιμαστικούς σωλήνες **εκτός** από το σωλήνα **2**.
4. Βάλτε **ζάχαρη** στο **λευκό καπάκι** μέχρι τη χαραγή και προσθέστε τη ζάχαρη στο δοκιμαστικό σωλήνα **3**. Επαναλάβετε για το σωλήνα **5**.
5. Προσθέστε ένα γεμάτο **κουταλάκι** ζάχαρη στο δοκιμαστικό σωλήνα **1**. Επαναλάβετε για τους δοκιμαστικούς σωλήνες **2** και **4**.
6. Στους δοκιμαστικούς σωλήνες **1**, **2**, **3** και **4** προσθέστε ζεστό νερό από το ποτήρι ζέσης (~ 37° C) μέχρι τη χαραγή.
7. Στο δοκιμαστικό σωλήνα **5** προσθέστε κρύο νερό μέχρι τη χαραγή.
8. Στο δοκιμαστικό σωλήνα **6** προσθέστε κρασί μέχρι τη χαραγή (το κρασί περιέχει 12 % v/v αιθανόλη).
9. Προσθέστε με το σταγονόμετρο με **μεγάλη προσοχή** 1 σταγόνα διαλύματος μπλε του μεθυλενίου σε κάθε σωλήνα **εκτός από τον σωλήνα 1**. *Προσοχή το μπλε του μεθυλενίου να μην πέφτει στα τοιχώματα των σωλήνων.*
10. Αναδεύστε το περιεχόμενο των δοκιμαστικών σωλήνων με τη βοήθεια του γυάλινου αναδευτήρα. Όταν αλλάζετε δοκιμαστικό σωλήνα να σκουπίζετε το βρεγμένο άκρο του γυάλινου αναδευτήρα με απορροφητικό χαρτί κουζίνας.

11. Τοποθετείστε τους δοκιμαστικούς σωλήνες **2, 3 και 4** στο υδατόλουτρο θερμοκρασίας 37° C και το δοκιμαστικό σωλήνα **5** στο κρύο νερό που υπάρχει στο ποτήρι ζέσης στον πάγκο σας (~15° C). Κρατήστε τους δοκιμαστικούς σωλήνες **1 και 6** στο στήριγμά τους στον πάγκο εργασίας σας.
12. Επιάστε για 20 λεπτά. Ελέγξτε το χρόνο με χρονόμετρο.

Σε αυτό το σημείο να προχωρήσετε στη 2^η άσκηση για εξοικονόμηση χρόνου. Επιστρέψτε στο βήμα 13 μετά το πέρασμα των 20 λεπτών.

13. Τοποθετείστε όλους τους δοκιμαστικούς σωλήνες στο στήριγμα τους στον πάγκο εργασίας σας.
14. Συμπληρώστε το φύλλο εργασίας της 1ης άσκησης.

ΦΥΛΛΟ ΕΡΓΑΣΙΑΣ 1^{ης} ΑΣΚΗΣΗΣ

Να παρατηρήσετε το χρώμα όλων των δοκιμαστικών σωλήνων **συγκριτικά**. Να απαντήσετε τις παρακάτω ερωτήσεις έχοντας υπόψη ότι **το μπλε του μεθυλενίου είναι χρωστική, άριστος δείκτης του βακτηριακού φορτίου ενός διαλύματος. Πιο συγκεκριμένα, ο βαθμός αποχρωματισμού του μπλε του μεθυλενίου είναι ανάλογος του αριθμού των ζωντανών μυκήτων και κατ' επέκταση του μεταβολισμού τους.**

Συμπληρώστε τον παρακάτω πίνακα:

<i>Δοκιμαστικός σωλήνας</i>	<i>Χρώμα περιεχομένου δοκιμαστικού σωλήνα</i>
2	
3	
4	
5	
6	

1. Στο παραπάνω πείραμα μελετώνται δύο παράγοντες που επηρεάζουν την κυτταρική αναπνοή στο μύκητα *Saccharomyces cerevisiae*. Να αναφέρετε αυτούς τους παράγοντες.

α).....

β).....

2. Να γράψετε σε ποιον/ποιους από τους δοκιμαστικούς σωλήνες το περιεχόμενο διατηρεί το αρχικό του χρώμα (σκούρο μπλε). Για ποιο λόγο πιστεύετε ότι συμβαίνει αυτό;

.....
.....
.....

3. Το περιεχόμενο σε κάποιους από τους δοκιμαστικούς σωλήνες έχει αποχρωματιστεί. Να κατατάξετε τους σωλήνες κατά αυξανόμενο βαθμό αποχρωματισμού. **Να εξηγήσετε το βαθμό αποχρωματισμού για κάθε ένα από αυτούς τους δοκιμαστικούς σωλήνες, λαμβάνοντας υπόψη τους παράγοντες που επηρεάζουν την κυτταρική αναπνοή και τους οποίους μελετήσατε στο παραπάνω πείραμα.**

.....
.....
.....
.....
.....
.....

4. Με βάση τις παρατηρήσεις σας να προτείνετε την καλύτερη θερμοκρασία ανάπτυξης για το μύκητα, μεταξύ των δύο που μελετήσατε. Να αιτιολογήσετε την απάντησή σας.

.....
.....
.....

5. Στην επιφάνεια του περιεχομένου ορισμένων δοκιμαστικών σωλήνων παρατηρείται έντονος αφρισμός. Που οφείλεται αυτό;

.....
.....
.....

6. Δεν έχουν όλα τα κρασιά την ίδια περιεκτικότητα σε αιθανόλη (οινόπνευμα). Πως μπορείτε να το εξηγήσετε αυτό;

.....
.....
.....

2^η ΑΣΚΗΣΗ

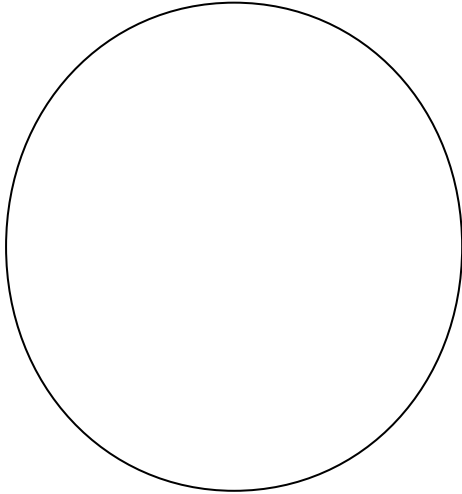
1. Στο κέντρο μιας αντικειμενοφόρου πλάκας τοποθετείστε με τη βοήθεια του σταγονόμετρου μια μικρή σταγόνα νερού.
2. Μέσα στη σταγόνα του νερού να μεταφέρετε από το δοκιμαστικό σωλήνα 1 λίγο από το εναιώρημα του ζυμομύκητα με τη βοήθεια του σταγονόμετρου. Με αυτόν τον τρόπο αραιώνεται το εναιώρημα των μυκήτων. **Προσοχή να μην δημιουργηθεί μεγάλη σταγόνα γιατί στη συνέχεια θα ξεχειλίσει.**
3. Ακουμπήστε με κλίση μια καλυπτρίδα στην άκρη της σταγόνας. Με τη βοήθεια της ανατομικής βελόνας, αφήστε την καλυπτρίδα να πέσει αργά πάνω στο παρασκευάσμα. Με τον τρόπο αυτό δεν δημιουργούνται φυσαλίδες.
4. Αφαιρέστε με χαρτί κουζίνας το υγρό που βγαίνει έξω από την καλυπτρίδα.
5. Παρατηρήστε τα παρασκευάσματα στο μικροσκόπιο, ξεκινώντας από τον αντικειμενικό φακό που επιτρέπει μεγέθυνση X4 και προχωρήστε στο φακό X10 και τελικά στο φακό X40. Μικροσκοπήστε σύμφωνα με τις οδηγίες μικροσκοπησης που έχετε διδαχθεί.

ΣΤΟ ΣΗΜΕΙΟ ΑΥΤΟ ΚΑΛΕΣΤΕ ΤΟΝ ΕΠΙΒΛΕΠΟΝΤΑ ΚΑΘΗΓΗΤΗ

6. Συμπληρώστε το φύλλο εργασίας της 1^{ης} άσκησης.

ΦΥΛΛΟ ΕΡΓΑΣΙΑΣ 1^{ης} ΑΣΚΗΣΗΣ

1. Αφού αναζητήσετε μια περιοχή του παρασκευάσματός σας όπου η συγκέντρωση των μυκήτων είναι αρκετά αραιή, να εντοπίσετε μύκητες που **εκβλαστάνουν**. Να σχεδιάσετε μερικά από τα κύτταρα του μύκητα που βλέπετε στο οπτικό πεδίο με τον αντικειμενικό φακό (X40). Στην ίδια απεικόνιση να επιλέξετε ένα κύτταρο που διαιρείται με εκβλάστηση, και να δείξετε με βέλη το μητρικό και το θυγατρικό κύτταρο (**εκβλάστημα**).



2. Να υπολογίσετε την τελική μεγέθυνση του παρασκευάσματος όταν η μεγεθυντική ικανότητα του προσοφθάλμιου φακού είναι **X10** και η μεγεθυντική ικανότητα του αντικειμενικού φακού είναι **X40**.

Τελική μεγέθυνση παρασκευάσματος :

ΚΑΛΗ ΕΠΙΤΥΧΙΑ !

		ΜΟΝΑΔΕΣ	Μονάδες Ομάδας
1^ο Φύλλο εργασίας	Προετοιμασία δοκιμαστικών σωλήνων	10	
	Ερώτηση 1η	5	
	Ερώτηση 2η	10	
	Ερώτηση 3η	20 (4/δοκιμαστικό σωλήνα)	
	Ερώτηση 4η	10	
	Ερώτηση 5η	10	
	Ερώτηση 6η	10	
2ο Φύλλο εργασίας	Χρήση μικροσκοπίου	20 Μικροσκόπηση: 5 Σχεδίαση: 5 Βελάκια: Μητρικό κύτταρο: 5 Εκβλάστημα: 5	
	Ερώτηση 2η	5	
	Σύνολο	100	