

**OLIMPIADA LA ȘTIINȚE PENTRU JUNIORI, ETAPA REPUBLICANĂ**  
**12 mai 2019**

**PROBA PRACTICĂ (BIOLOGIA) (10,0 p.)**

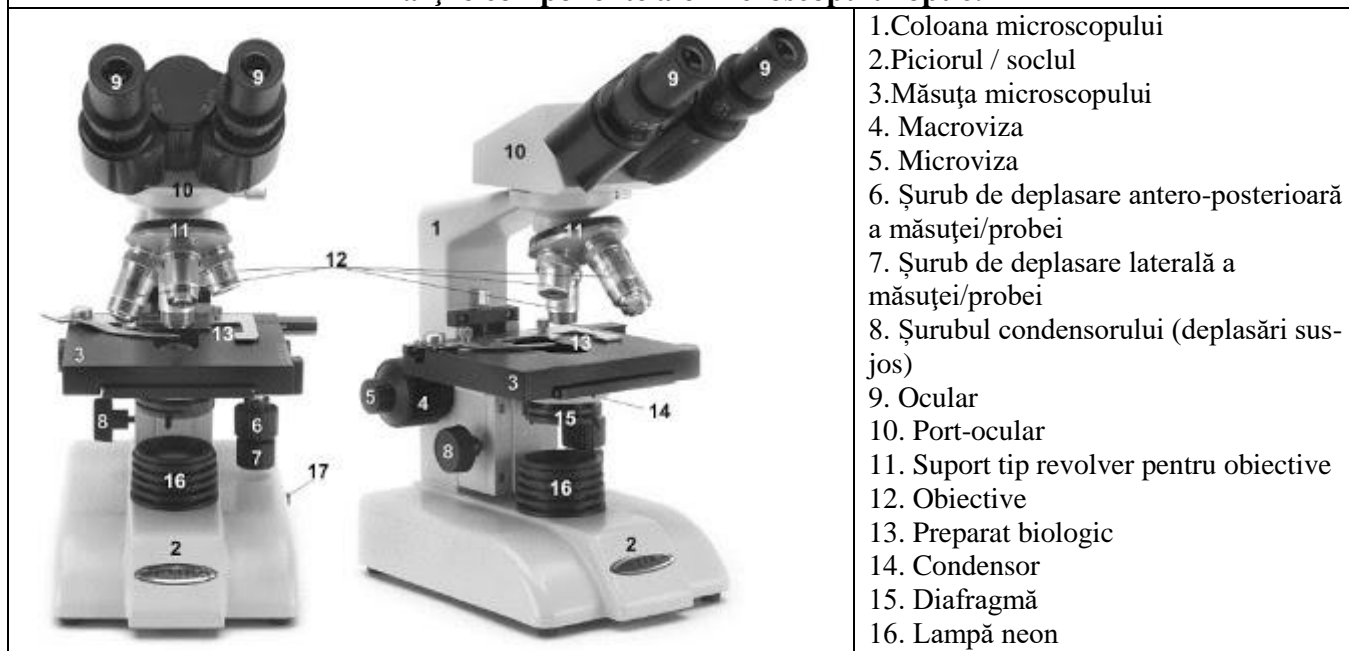
**Fiziologia celulei vegetale**

Citiți cu atenție instrucțiunile de lucru cu microscopul optic și protocolul. Dacă aveți întrebări sau anumite lucruri nu vă sunt clare, solicitați ajutorul asistentului de laborator înainte de a începe proba practică.

**Instrucțiuni de lucru cu microscopul optic:**

1. se conectează iluminarea sau se orientează lumina cu ajutorul oglinzii;
2. se rotește sistemul obiectiv și se aduce în axul optic obiectivul 10x sau 8x;
3. privind prin oculare se ridică sau se coboară condensorul pentru o iluminare optimă și corectă a preparatului. Dacă se dorește o iluminare mai bună, se ridică condensorul, iar dacă iluminarea este prea puternică se coboară condensorul. Cu cât obiectivul folosit este mai mare, cu atât va trebui ridicat mai mult condensorul pentru a avea iluminarea adecvată. Inițial, folosindu-se obiectivul de 10x este suficientă o poziție la 1 cm sub măsura;
4. lama cu preparatul biologic se așază pe măsura microscopului și se fixează cu ajutorul vafeților;
5. se privește **din lateral** și se coboară cu ajutorul macrovizei tubul microscopului cât se poate de mult și se oprește aproximativ la 1 cm de măsura;
6. apoi, se privește prin oculare, folosind tot macroviza, se ridică tubul microscopului până când se obține o imagine clară și colorată, iar pentru punerea la punct de finețe se utilizează microviza;
7. din acest moment se poate examina cu obiectivul de 20x/40x;
8. **Atenție!** Obiectivul de 20x/40x este folosit pentru examinarea preparatului doar dacă s-a obținut o imagine foarte clară cu obiectivul de 10x. După obținerea acestei imagini, **nu se folosește macroviza** (doar în cazuri rare se folosește cu mișcări foarte fine, milimetrice), deoarece ***există riscul de a sparge lama !***
9. se aduce în axul optic obiectivul de 20x sau 40x;
10. imaginea se ajustează folosind doar microviza;
11. după utilizarea microscopului, se scoate lama de pe măsura, în ax se readuce obiectivul de 10x, se deconectează de la priză (dacă e necesar) și se acoperă cu husa de protecție.

**Părțile componente ale microscopului optic:**



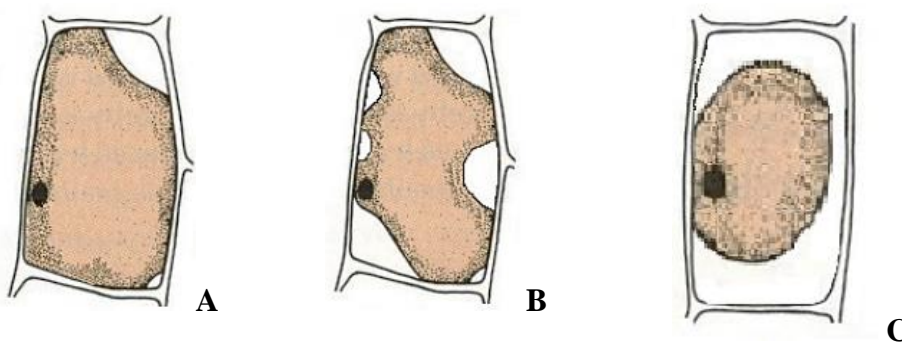
## Protocol de lucru

### Experiența nr.1

#### Studierea efectului cationilor asupra vâscozității citoplasmei celulelor vegetale.

Vâscozitatea citoplasmei este unul dintre cei mai importanți indicatori ai stării fizico-chimice a citoplasmei, caracterizând potențialul adaptiv al plantei. Vâscozitatea citoplasmei depinde de asemenea de specie, ecotip, vârsta organului și de faza ontogenezei plantei. Una dintre cele mai simple metode de determinare a vâscozității citoplasmei este determinarea timpului de plasmoliză. Plasmoliza reprezintă pierderea prin osmoză a apei de către vacuole și celula vegetală în ansamblu, în prezența unei soluții hipertonică extracelulare. Ca rezultat are loc contractarea citoplasmei și desprinderea, pe suprafețe mai mici sau mai mari, a membranei plasmatică de pereții celulozici rigizi. Timpul de plasmoliză este intervalul de timp de la imersarea celulelor într-o soluție hipertonică până la apariția plasmolizei convexe la mai mult de jumătate din celulele din câmpul vizual al microscopului. Timpul de plasmoliză depinde în mod direct de vâscozitatea citoplasmei. Cu cât vâscozitatea citoplasmei este mai mică, cu atât timpul de plasmoliză este mai mic.

**Scopul experienței** este de a investiga influența diferitor cationi ( $K^+$ ,  $Na^+$  și  $Ca^{2+}$ ) asupra vâscozității citoplasmei folosind în calitate de martor pozitiv zaharoza.



**Fig. 3.1 Etapele plasmolizei**

**A** – plasmoliza incipientă, **B** – plasmoliza concavă, **C** – plasmoliză convexă

#### **A. Materiale și ustensile:**

- Bulb de ceapă (*Allium cepa* L.)
- lame, lamele, hârtie de filtru, pipete Pasteur, pensetă, ace, bisturiu, baghetă de sticlă, arzător bunsen, microscop
- apă distilată ( $H_2O_d$ )
- soluție de zaharoză 1 M, ( $C_{12}H_{22}O_{11}$ , 1 M)
- soluție de azotat de potasiu 1 M, ( $KNO_3$ , 1 M)
- soluție de azotat de sodiu 1 M, ( $NaNO_3$ , 1 M)
- soluție de azotat de calciu 0.7 M, ( $Ca(NO_3)_2$ , 1 M)

#### **B. Mersul lucrării:**

1. Luați o lamă, înlăturați impuritățile cu ajutorul hârtiei de filtru, sterilizați lama la flacără.
2. Folosind pipeta Pasteur picurați pe lamă o picătură de apă distilată.
3. Luați ceapa. Tăiați-o longitudinal și îndepărtați foițele exterioare. Detașați o foiță cărnoasă din bulbul de ceapă. Folosind bisturiul și penseta detașați o porțiune mică din epiderma superioară (5-10 mm).
4. Plasați o porțiune mică de epidermă în picătura de apă de pe lamă și acoperiți-o cu o lamelă evitând formarea bulelor de aer sub aceasta. Soluția trebuie să umple tot spațiul de sub lamelă și să nu depășească limitele lamelei.

5. **Așteptați 1-2 min. și examinați preparatul la microscopul optic** utilizând obiective cu diferită putere de mărire (inițial **10x**, după care **20x**).

**N.B! Citoplasma celulelor la microscop trebuie să fie colorată în roz. Pentru aceasta asigurați-vă că ați luat și stratul de celule din epidermă care conține antociani.**

6. Chemați asistentul pentru a verifica preparatul vizualizat la **obiectivul 20x** și a semna în caseta de la **punctul 3.1** din *Foaia de răspunsuri*.

7. Reproduceți imaginea văzută la microscop în spațiul rezervat la **p. 3.2** din *Foaia de răspunsuri*.

8. Realizați **sarcina 3.3** din *Foaia de răspunsuri*.

9. Luați o lamă nouă, înlăturați impuritățile cu ajutorul hârtiei de filtru, sterilizați lama la flacără. Picurați pe lamă o picătură de **zaharoză 1 M** ( $C_{12}H_{22}O_{11}$ , 1 M).

10. Detașați o porțiune nouă de epidermă, plasați-o în picătura de zaharoză de pe lamă și acoperiți-o cu o lamelă. Notați timpul plasării epidermei în soluția de zaharoză în rubrica corespunzătoare din **Tabelul de la p. 3.4** în *Foaia de răspunsuri*.

11. Așteptați **5 minute** și examinați preparatul la microscopul optic utilizând **obiectivul 10x**.

**N.B! asigurați-vă că porțiunea cercetată din preparat conține un strat de celule cu citoplasma colorată în roz. După ce ați identificat porțiunea respectivă nu mai deplasați preparatul.**

12. Notați în **Tabelul de la p. 3.4** tipul de plasmoliză evidențiat la mai mult de 50 % din celulele văzute în câmpul vizual.

13. Examinați preparatul (**același câmp vizual**) la microscop după **10, 15 și 20 minute** de la imersarea epidermei în soluția de zaharoză. Notați în **Tabelul de la p. 3.4** tipul de plasmoliză evidențiat la mai mult de 50 % din celulele examinate în câmpul vizual

**N.B.! preparatul temporar se poate usca. Dacă este necesar adăugați o picătură de soluție, absorbind-o sub lamelă.**

14. Reproduceți doar pentru soluția de zaharoză imaginea văzută la microscop după expirarea a **5, 10, 15 și 20 min.** de la imersarea epidermei în soluția de zaharoză, în spațiul rezervat de la **p. 3.5** din *Foaia de răspunsuri*.

15. Repetați **pașii 9-13** folosind pe rând soluțiile de azotat de potasiu 1 M, ( $KNO_3$ , 1 M), azotat de sodiu 1 M, ( $NaNO_3$ , 1 M), azotat de calciu 0.7 M, ( $Ca(NO_3)_2$ , 1 M).

16. Realizați **sarcina 3.6** din *Foaia de răspunsuri*.