

פעילות פוספטאז ורעיונות לשילוב בעבודת ביוחקר יא' בטבת, 8.1.2020

מידע לגבי בעיה 2 בבחינת בגרות במעבדה 5 י"ל תשע"א (2011) ראו בקובץ [פעילות](#)

[האנזים פוספטאז בתאים של שורשוני לוביה, למורה וללבורנט.](#)

ססציקיט 1 - 4 מוצגים כמה רציונות הקשורים לנושא הניסוי בבחינת הביצרות. המורה יוכל לפתח כל אחד מהם, לפצץ ניסוי מקדים ולבדוק עם תלמידיו את ההיתכנות של הרציון שבחר לביוחקר. תזכורת: לפני ביצוע ניסוי כלשהו, חובה על המורה לבדוק את הוראות המטוחות הראוונטיות כפי שפורסמו באתר המח"ר ולצבור רק על פיהן.

1. אפשר לבצע ניסויים דומים לניסוי שבחלקים א ו-ב בבעיה 2.
 - להשתמש באורגניזם אחר או באיבר אחר של צמח כגון שורשוני עדשים, סויה, שעועית.
 - לשנות את הטווח של המשתנה הבלתי תלוי בניסוי.
 - להשתמש בשיטת מדידה אחרת בה מודדים את פנול פתלאין שהוא אחד מתוצרי תהליך הפרוק של פוספט אורגני. במקום להשתמש בסולם צבעים אפשר למדוד את הבליעה של תמיסות פנול פתלאין בסיסיות באמצעות ספקטרופוטומטר [באורך גל 550 ננומטר](#).
2. אפשר לבדוק את פעילותו של האנזים פוספטאז באופן דומה למתואר בפרק ג בניסוי שבבעיה 1 (ניתוח תוצאות ניסוי: פעילות האנזים פוספטאז בשורשי קישוא), ובניסוי א בבעיה 3 (עיבוד תוצאות באקסל).
בהתבסס על נתונים אלו ועל [מידע בספרות](#)¹, אפשר לבצע ניסוי מקדים בו שורשוני הנבטים יהיו בתוך **תמיסת גידול** (כמתואר בקצרה בהמלצות שבסעיפים א-ח שבהמשך).
 - א. להתפיח זרעי לוביה ולהעביר אותם להנבטה עד שיציץ שורשון קטן.
 - ב. להכין כמה סדרות של כוסיות קטנות (לדוגמה, כוסיות לשתיית ליקר). אם נפח הנוזל בכוסיות יהיה קטן ויופרש אנזים לסביבה החיצונית, תתקבל תמיסת אנזים מרוכזת ככל שניתן.

¹ [R. Yadav & J. Tarafdar, *Biology and Fertility of Soils* volume 34, pages 140–143 \(2001\), Influence of organic and inorganic phosphorus supply on the maximum secretion of acid phosphatase by plants](#)

- ג. בכל סדרה יש להכין כמה כוסיות² ולהכניס לכל אחת כ-25 מ"ל של תמיסת גידול, לדוגמה: מים, תמיסת פנול פתלאין פוספט (בריכוז התחלתי 0.1% או 0.2%) ותמיסת KH_2PO_4 (בריכוז התחלתי 0.5%)³.
- ד. לאחר שהנבטים יתפתחו (2 או 3 ימים), לכסות כל כוסית בפיסת גזה ולהניח עליה את הנבטים, כך שכל שורשון יהיה נעוץ בחור שבגזה וטבול בנוזל שבכוסית (כפי שמפורט בסעיף ג). מומלץ להכניס לכל כוסית 10 – 20 שורשונים.
- ה. כמה שעות לאחר מכן (לדוגמה 3 או 4 שעות) להעביר חלק מתמיסת גידול מכל אחת מהכוסיות למבחנה נקיה ולפי הצורך להוסיף לכל מבחנה מים או תמיסת פנול פתלאין פוספט.
- ו. להעביר את המבחנות לאמבט מים פושרים למשך כ-15 דקות, להוציא אותן ולהמתין לירידת הטמפרטורה בנוזל.
- ז. לטפטף טיפה של תמיסת בסיס (נתרן קרבונט) לכל מבחנה ולרשום מיד את צבע התמיסה בכל אחד מהטיפולים. מומלץ להיעזר בסולם הצבעים שבנספח לשאלון בחינת בגרות תשע"א.
- ח. אם הכנתם יותר ממבחנה אחת לכל סדרה אפשר להמשיך ולבדוק מבחנות נוספות אחרי פרקי זמן נוספים (כגון אחרי 6 שעות, 12 שעות, 24 שעות).

הערות:

- מכיוון שהניסוי נמשך ימים אחדים, הנבטים הצעירים יכולים להתקיים ולהתפתח במים ללא הוספת מינרלים חיוניים.
- חיוניותם של הנבטים בכוסיות שמכילות תמיסת פנול פתלאין פוספט או פוספט אי אורגני נשמרת במשך יומיים שלושה.
- המהלך המתואר בסעיף זה דומה לזה שבוצע בכלי עם האגר (בעיה 2 חלק א2), אלא שכאן אם יתקבל פנול פתלאין בתמיסה, הוא יהיה תוצר של פעילות אנזימטית שהתרחשה רק בתמיסת גידול ולא בתאי השורשונים. תוצאות כאלה תומכות בכך שהאנזים הופרש מתאי השורשונים.
- אם בניסוי מקדים דומה להצעה שלעיל נמצא שבתנאים כלשהם לא מופרש פוספטאז לתמיסת הגידול, אפשר בסיום הניסוי לשטוף את השורשונים ולבדוק האם יש פוספטאז בתוך תאי השורשונים (כמתואר בבעיה 2, חלק א1). התוצאה שתתקבל תתמוך בכך שהאנזים נוצר כל הזמן, והוא מופרש אל מחוץ לתא בתנאים מסוימים.

² כוסית לכל טיפול ולכל בדיקה שברצונכם לבצע (מומלץ לבדוק כל טיפול בכמה פרקי זמן מתחילת הניסוי).
³ KH_2PO_4 הוא פוספט אי אורגני אותו מספקים במרכז (חומר זה כלול בערכת בופר פוספט).

3. אפשר גם לבדוק את השפעת גיל הנבט על פעילות פוספטאז באמצעות מערכת דומה לזו שהוצגה בסעיף 2. בניסוי מקדים זה אפשר להשהות קבוצה של נבטים בכוסית מסוימת, לאחר פרק זמן (שעות או יום) להעביר את הנבטים לכוסית עם תכולה זזה, להשהות את הנבטים לפרק זמן ולהעביר שוב לכוסית חדשה.

4. ידוע כי פוספטאז מופרש גם מחיידקים המצויים בקרקע, על פי הוראות הבטיחות אין לגדל ואין לבדוד חיידקים מהקרקע (ראו חוזרים בנושא מעבדה) שימוש בחומר חי במעבדות בתי הספר" (24.10.2019).

אפשר לבדוק איזה מבין מיני החיידקים המסופקים על ידי המרכז לפיתוח ותמיכה (Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis) מייצר פוספטאז ולתכנן ניסויים עם חיידקים ממין זה, כל זה תוך הקפדה על כללי הזהירות בעבודה עם חיידקים.