Izzivi razvijanja in vrednotenja znanja v gimnazijski praksi

BIOLOGIJA

Izzivi razvijanja in vrednotenja znanja v gimnazijski praksi

BIOLOGIJA

mag. Minka Vičar
dr. Barbara Vilhar
Sonja Marušič
Bernarda Devetak
Katja Holnthaner Zorec
Majda Kamenšek Gajšek
mag. Katja Stopar
dr. Alenka Gorjan
Nada Udovč Knežević
dr. Miomir Knežević
dr. Katarina Vogel Mikuš
dr. Dušan Devetak
dr. Marjan Slak Rupnik
dr. Andraž Stožer
dr. Maša Skelin Klemen
dr. Jurij Dolenšek
dr. Lidija Križančić Bombek
dr. Helena Črne Hladnik
Petra Vrh Vrezec
dr. Al Vrezec

Izzivi razvijanja in vrednotenja znanja v gimnazijski praksi

Biologija

Uredili:	Saša Kregar, mag. Minka Vičar
Avtorji:	mag. Minka Vičar, dr. Barbara Vilhar, Sonja Marušič, Bernarda Devetak, Katja Holnthaner Zorec, Majda Kamenšek Gajšek, mag. Katja Stopar, dr. Alenka Gorjan, Nada Udovč Knežević, dr. Miomir Knežević, dr. Katarina Vogel Mikuš, dr. Dušan Devetak, dr. Marjan Slak Rupnik, dr. Andraž Stožer, dr. Maša Skelin Klemen, dr. Jurij Dolenšek, dr. Lidija Križančić Bombek, dr. Helena Črne Hladnik, Petra Vrh Vrezec, dr. Al Vrezec
Strokovni pregled:	dr. Gregor Belušič, mag. Andrej Podobnik
Jezikovni pregled:	Tatjana Ličen
Izdal in založil:	Zavod RS za šolstvo
Predstavnik:	mag. Gregor Mohorčič
Urednici zbirke:	dr. Amalija Žakelj, mag. Marjeta Borstner
Tehnična urednica:	Alenka Štrukelj
Oblikovanje:	Irena Hlede
Postavitev:	Present d. o. o.
Objava na spletnem naslovu:	http://www.zrss.si/digitalnaknjiznica/Izzivi_razvijanja_in_vrednotenja_znanja_v_gimnazijski_praksi_BIOLOGIJA/

Druga izdaja

Ljubljana, 2013

Publikacija je brezplačna.

Zbirka Izzivi razvijanja in vrednotenja znanja v gimnazijski praksi je nastala v okviru projekta Posodobitev kurikularnega procesa v osnovni šoli in gimnaziji v sklopu Posodobitev pouka na osnovni šoli in gimnaziji.

Izid publikacije sta sofinancirala Evropski socialni sklad Evropske unije in Ministrstvo za izobraževanje, znanost in šport.

Zavod Republike Slovenije za šolstvo

REPUBLIKA SLOVENIJA
MINISTRSTVO ZA IZOBRAŽEVANJE, ZNANOST IN ŠPORT

Naložba v vašo prihodnost
OPERACIJO DELNO FINANCIRA EVROPSKA UNIJA
Evropski socialni sklad

© Zavod Republike Slovenije za šolstvo, 2013

Vse pravice pridržane. Brez založnikovega pisnega dovoljenja gradiva ni dovoljeno reproducirati, kopirati ali drugače razširjati. Ta prepoved se nanaša tako na mehanske (fotokopiranje) kot na elektronske (snemanje in prepisovanje na karšenkoli pomnilniški medij) oblike reprodukcije, razen delov, kjer je to posebej označeno.

CIP - Kataložni zapis o publikaciji
Narodna in univerzitetna knjižnica, Ljubljana

37.091.26:57

IZZIVI razvijanja in vrednotenja znanja v gimnazijski praksi. Biologija / Minka Vičar ... [et al.] ; [uredili Saša Kregar, Minka Vičar]. - 1. izd., 1. natis. - Ljubljana : Zavod RS za šolstvo, 2013

ISBN 978-961-03-0089-2
ISBN 978-961-03-0130-1 (pdf)
1. Vičar, Minka, 1956-
267350272

KAZALO

Uvod (*Minka Vičar, Saša Kregar*) 5

1 IZZIVI RAZVIJANJA IN VREDNOTENJA ZNANJA PRI BIOLOGIJI 7

1.1 Razvijanje in preverjanje znanja pri biologiji (*Minka Vičar*) 9

2 PRIMERI RAZVIJANJA IN VREDNOTENJA ZNANJA 17

2.1 Delovanje celice 19
2.1.1 Zakaj so celice tako majhne? (*Barbara Vilhar, Sonja Marušič*) 19
2.1.2 Osmoza v različnih rastlinskih tkivih (*Bernarda Devetak*) 72
2.1.3 Razgradnja različnih sladkorjev v procesu alkoholnega vrenja (*Katja Holnthaner Zorec*) 81
2.1.4 Preučevanje življenjskih procesov (*Katja Stopar*) 89
2.1.5 Obravnava sinteze beljakovin z uporabo analogije in spletnih orodij (*Alenka Gorjan*)..... 107

2.2 Genetika in biotehnologija 120
2.2.1 Raziskovanje rodovnika (*Majda Kamenšek Gajšek*) 120
2.2.2 Biotehnološki postopek na primeru proizvodnje piva (*Majda Kamenšek Gajšek*) 132
2.2.3 GSO – Skrivnosti tropskega deževnega gozda (*Nada Udovč Knežević in Miomir Knežević*) 147

2.3 Delovanje organizmov 184
2.3.1 Pomen mineralne prehrane za rast in razvoj rastlin (*Katarina Vogel Mikuš*) 184
2.3.2 Kineze in taksije pri prašičkih (*Trachelipus rathkii)* (*Dušan Devetak*) 199
2.3.3 Raziskovanje delovanja srca s pomočjo EKG-senzorja (*Sonja Marušič*) ... 206
2.3.4 Kako nastane Nernstov potencial? (*Andraž Stožer*) 240
2.3.5 V čem se membranski potencial razlikuje od Nernstovega? (*Andraž Stožer, Marjan Slak Rupnik*) 249
2.3.6 Akcijski potencial (*Maša Skelin Klemen*) 255
2.3.7 Delovanje nevronov in hitrost prevajanja po živcu (*Maša Skelin Klemen*) 262
2.3.8 Kako hitri so naši reakcijski časi? (*Maša Skelin Klemen*) 269
2.3.9 Kako merimo električno delovanje srca? (*Andraž Stožer*) 277
2.3.10 Kaj nam pove električna os srca? (*Andraž Stožer*) 290
2.3.11 Glukoza v krvi in oralni glukozni tolerančni test (*Maša Skelin Klemen*) .. 295
2.3.12 Pljučni volumni in pretok (*Jurij Dolenšek*) 303
2.3.13 Dihalni odziv na spremembe vsebnosti plinov v krvi (*Jurij Dolenšek*) 310
2.3.14 Prenos kisika s pljučnim dihanjem (*Jurij Dolenšek*) 318
2.3.15 Fiziologija aerobne vadbe: kardiovaskularne in dihalne prilagoditve na vadbo (*Lidija Križančić Bombek*) 325
2.3.16 Arterijski tlak (*Lidija Križančić Bombek*) 337
2.3.17 Maščoba, voda, mišice – telesna sestava pod drobnogledom (*Lidija Križančić Bombek*) 347

2.3.18 Tudi mišice oddajajo električne signale – elektromiogram (EMG) (*Lidija Križančić Bombek)* 358
2.3.19 Določanje širine vidnega polja človeka s »perimetrom« (*Lidija Križančić Bombek*) 368
2.3.20 Koliko energije porabimo, kadar ne delamo nič in kadar telovadimo? (*Lidija Križančić Bombek*) 377
2.4 Ekologija 389
2.4.1 Raziskovanje ekosistema potok in biološka ocena kakovosti tekočih voda (*Katja Holnthaner Zorec*) 389
2.4.2 Fenološka opazovanja v šolski praksi (*Helena Črne Hladnik*) 401
2.4.3 Ocenjevanje velikosti populacije z označevanjem osebkov (*Al Vrezec, Petra Vrh Vrezec*) 413
2.4.4 Ocenjevanje vrstne pestrosti ptic in naravovarstveno vrednotenje območij (*Petra Vrh Vrezec, Al Vrezec*) 422
2.4.5 Ekosferna shramba (*Al Vrezec, Petra Vrh Vrezec*) 436
2.4.6 Prehranska niša semenojedih ptic – poskus na krmilnici (*Petra Vrh Vrezec, Al Vrezec*) 443
2.5 Evolucija 454
2.5.1 Od gena do naravnega izbora: raziskovanje populacij skalne žepne miši (*Barbara Vilhar*) 454

LEGENDA:

Dovoljeno kopiranje in reproduciranje gradiv za potrebe pouka.

Uvod

Mag. Minka Vičar in Saša Kregar, Zavod RS za šolstvo

Gradivo je nastalo v nadaljevanju dela pri posodabljanju biološkega izobraževanja in podpori uvajanja posodobljenih učnih načrtov, ki ga je Predmetna in Predmetna razvojna skupina za biologijo na Zavodu Republike Slovenije za šolstvo v obdobju od 2007 do 2012 izvajala v okviru Skupine za razvoj kurikuluma in pozneje Oddelka področnih in predmetnih skupin (oboje pod vodstvom dr. Amalije Žakelj). Izvedba je potekala v projektih *Raznoliki pristopi k posodabljanju naravoslovnih predmetov – biologija* (v obdobju 2007–2011) ter v okviru projektov *Posodobitev gimnazije – Posodobitev učnih načrtov (2006–2010)* ter *Posodobitev kurikularnega procesa na osnovni šoli in v gimnaziji (2010–2013)*. Delo je bilo opravljeno v sodelovanju Predmetne skupine za biologijo s Predmetno razvojno skupino za biologijo, biološko matično disciplino z univerz in inštituta ter s srednješolskimi mentorskimi učiteljicami in učitelji biologije.

V okviru projekta Raznoliki pristopi k posodabljanju naravoslovnih predmetov – biologija so v podporo posodabljanju biološkega izobraževanja v založbi Zavoda RS za šolstvo izšli trije slovenski prevodi (Štiri razsežnosti evolucije avtoric Eve Jablonke in Marion J. Lamb, Glasba življenja avtorja Denisa Nobla, Življenje v skrajnostih: umetnost preživetja avtorice Frances Ashcroft) ter pet zbornikov prispevkov usposabljanj učiteljic in učiteljev na mednarodnih posvetih Biološka znanost in družba (GENIalna prihodnost – genetika, determinizem in svoboda/ International Conference Bioscience and Society: GENIal future – genetics, determinism and freedom, 2007, *http://www.zrss.si/bzid/geni/gradiva.htm*, *http://videolectures.net/bzid07_ljubljana/*, Ekosistemi – povezanost živih sistemov/International Conference Bioscience and Society: Ecosystems – Interdependence of Living Systems, 2008, *http://videolectures.net/bzid08_ljubljana/*, *http://www.zrss.si/bzid/ekosistemi/?lnk=zbornik*, Biodiverziteta, Raznolikost živih sistemov/International Conference Bioscience and Society: Biodiversity – Diversity of Living Systems, 2009, *http://videolectures.net/bzid09_ljubljana/*, *http://www.zrss.si/bzid/biodiverziteta/?lnk=gradiv*, Organizmi kot živi sistemi/International Conference Bioscience and Society: Organisms as living systems, 2010, *http://videolectures.net/bzid2010_ljubljana/*, *http://www.zrss.si/bzid/organizmi/default.asp*, Povezanost procesov/International Conference Bioscience and Society: Interdependence of Processes, 2011, *http://videolectures.net/bzid2011_ljubljana/*, *http://www.zrss.si/bzid/procesi/*). V okviru projekta Posodobitev gimnazije – Posodobitev učnih načrtov je bilo izdelano in leta 2011 v zbirki Posodobitev pouka v gimnazijski praksi izdano gradivo Biologija (*http://www.zrss.si/digitalnaknjiznica/*).

Gradivo Izzivi razvijanja in vrednotenja znanja v gimnazijski praksi – Biologija je rezultat nadaljevanja skupnega razvojnega dela PRS za biologijo pri uvajanju posodobljenega učnega načrta za biologijo v okviru projektu *Posodobitev kurikularnega procesa na osnovni šoli in v gimnaziji (2010–2013)*. Vsebuje primere obravnave izbranih bioloških konceptov, ki poleg razumevanja osnovnih biotskih zakonitosti vključujejo uporabo znanja, razvijanje sistemskega mišljenja, metod raziskovanja živih sistemov in znanstvenega pogleda na svet. Predstavljeni primeri izvedb vsebujejo osnovne podatke o avtorici/avtorju, kratke informacije o predstavljenem pristopu, osnovna vsebinska izhodišča, predstavitev pristopov k obravnavi izbranih

bioloških konceptov, refleksijo ter preverjanje znanja (nekateri primeri preverjanja znanja imajo dodane tudi možne odgovore). Na koncu prispevkov so navedeni viri, v prilogah pa so gradiva, ki se lahko uporabijo kot osnova za pripravo gradiv za dejavnosti dijakinj/dijakov.

V učnem načrtu za biologijo poleg splošnih znanj (SZ) posebna znanja (PZ) v nasprotju z večino preostalih učnih načrtov niso posebej navedena. Profesorica/profesor biologije strokovno avtonomno glede na zmožnosti in interese dijakinj/dijakov ter aktualne probleme in odkritja na področju bioznanosti (*Učni načrt za predmet biologija, gimnazija*, 2008: UN, str. 8) izvede izbor bioloških konceptov, ki jih poglobljeno obravnava v okviru PZ. Zato poleg primerov na osnovni ravni gradivo ponuja nekaj primerov kompleksnejše obravnave bioloških konceptov za razvijanje zahtevnejših ravni znanja tudi v okviru PZ v obveznem programu (lahko tudi v okviru izbirnega programa, raziskovalnih nalog, biološkega krožka in podobno). V primerih poglobljene kompleksnejše obravnave je treba uporabiti več predznanja matematike in fizike, zato izvedba omogoča tudi možnost smiselnega medpredmetnega sodelovanja.

Gradivo Izzivi razvijanja in vrednotenja znanja v gimnazijski praksi – Biologija je namenjeno profesoricam in profesorjem biologije kot vir primerov obravnave izbranih bioloških konceptov in izbor idej za uporabo pri načrtovanju izvedb, ki jih prilagajajo različnim zahtevnostnim ravnem glede na predznanje in zmožnosti dijakinj in dijakov. V nasprotju s prejšnjim to gradivo namenja nekoliko več pozornosti preverjanju znanja. Izobraževanje je kompleksen proces, ki poteka v raznolikem kulturnem in družbenem okolju. Na izvedbeni ravni učitelji in učiteljice kot strokovnjaki/-nje izbirajo ustrezno uporabo ter smiselne kombinacije različnih pristopov za razvijanje, preverjanje znanja in ocenjevanje. Poleg mnogih dejavnikov na možnosti razvijanja in preverjanja znanja vpliva tudi položaj oziroma obseg predmeta v predmetniku. Večji obseg predmeta omogoča več možnosti za prenos, preverjanje in utrjevanje znanja, posodabljanje, preizkušanje ter smiselno vpeljevanje posodobljenih ali novih pristopov. Ključnega pomena za razvoj biološkega izobraževanja je, da v obstoječem obsegu predmeta in s tem povezanimi možnostmi preverjanje znanja kot neločljivega dela izobraževalnega procesa tako kot poučevanje sledi konceptualni posodobitvi biološkega izobraževanja in razvijanju kakovostnega temeljnega znanja biologije in odprtega sistemskega mišljenja.

Predstavljeni primeri pokrivajo le del sicer obsežnih potreb po postopnem posodabljanju biološkega izobraževanja, še posebej preverjanja znanja, kjer nas čaka še ogromno dela. Upamo, da bodo v pomoč pri delu in v spodbudo za nadaljevanje dela pri nenehnem razvoju in posodabljanju biološkega izobraževanja v javni šoli.

Zahvaljujemo se avtoricam in avtorjem prispevkov, recenzentoma dr. Gregorju Belušiču in mag. Andreju Podobniku ter vsem članicam in članom Predmetne razvojne skupine za biologijo (PRS), ki so svetovali in pomagali pri nastajanju predstavljenih primerov izvedbe praktičnega dela. Še posebej se zahvaljujemo dr. Amaliji Žakelj, vodji Oddelka področnih in predmetnih skupin, v okviru katerega sta nam je bili omogočeni delo pri razvoju predmeta in s tem povezanih gradivih ter usposabljanje učiteljic in učiteljev biologije (18 osemurnih in 5 dvodnevnih usposabljanj na mednarodnih posvetih Biološka znanost in družba).

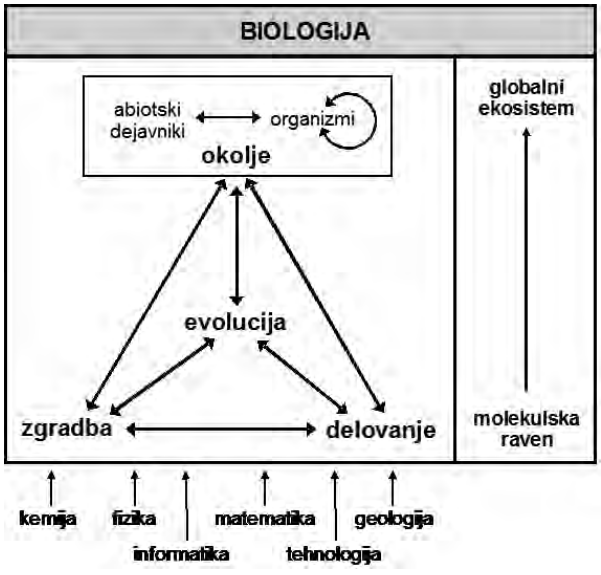
Izzivi razvijanja in vrednotenja znanja pri biologiji

1.1 Razvijanje in preverjanje znanja pri biologiji

Mag. Minka Vičar, Zavod RS za šolstvo

Eno izmed najpomembnejših poslanstev biološkega izobraževanja je zagotavljanje temeljnega splošnega znanja biologije, ki omogoča celostno razumevanje razvoja in delovanja živih sistemov na vseh ravneh organizacije življenja na Zemlji in prispeva k oblikovanju pogleda na svet. Razumevanje evolucije kot osrednjega biološkega koncepta, ki biološko vedo loči od drugih naravoslovnih disciplin, je osnova za celostno razumevanje povezanosti strukture in funkcije raznolikih živih sistemov ter njihove povezanosti v spletu biotskih procesov Zemljine biosfere.

Pouk biologije v javnih šolah temelji na racionalni obravnavi življenja (ustrezno poenostavljenih bioloških vsebinah), razumevanju načel znanstvenega pristopa in razvijanju znanstvenega načina mišljenja. Skozi izobraževalni proces dijakinje in dijaki na podlagi razumevanja in povezovanja temeljnih bioloških konceptov razvijajo sistemsko znanje, analitični način mišljenja in zmožnosti, ki omogočajo sintezno uporabo znanja pri vrednotenju in reševanju kompleksnih življenjskih težav ter nadgradnjo znanja s prihodnjimi novimi znanstvenimi spoznanji. S posodobitvijo učnega načrta za biologijo v izobraževalnem procesu prehajamo od pretežno deterministočnega mehaničnega pogleda na življenje na celostno obravnavo ter sistemsko razumevanje evolucije in delovanja omrežja nenehno spreminjajočega se življenja na Zemlji (glej Sliko 1: *Prikaz celostnega pristopa k poučevanju biologije)*.



Slika 1: Prikaz celostnega pristopa k poučevanju biologije (vir: Učni načrt za predmet biologija, gimnazija, 2008: 62)

Preverjanje znanja kot neločljivi del izobraževalnega procesa mora slediti temu pomiku. Zato je razumevanje evolucije in celovitosti delovanja žive narave oziroma biosfere glavno vodilo preverjanja in vrednotenja izkazanega biološkega znanja. Pri tem je pomembno, da izbor pristopov obravnave in preverjanja znanja omogoča

usmerjanje učenja v povezovanje temeljnih biotskih procesov in z njimi povezanih struktur, ki jih živi sistemi razvijajo z evolucijo. Preverjanje razumevanja raznolikosti in koevolucije živih sistemov oziroma biodiverzitete naj vključuje njihovo funkcionalno povezanost v kompleksnem spletu soodvisnih biotskih procesov, ki sooblikujejo življenjske razmere v Zemljini ekosferi. Pri tem je pomembno, da se v spletu biotskih procesov izpostavlja kompleksna povezanost vseh hierarhičnih ravni organizacije raznolikih živih sistemov in da v nenehnem evolucijskem razvoju na vsaki višji kompleksnejši integracijski ravni njihove organizacije (od celic, organizmov, življenjskih združb, ekosistemov do biosfere) sodelovanje soustvarja in dodaja nove (emergenčne) lastnosti višjih ravni, ki jih na nižjih ravneh ni. Celostno preverjanje doseganja znanja o človeški vrsti kot neločljivem delu biosfere, tako kot o delovanju preostalih organizmov, naj vključuje tudi uporabo znanja za odgovorno reševanje kompleksnih problemov in pri tem smiselno povezovanje znanja drugih disciplin.

Med izobraževalnim procesom profesorice in profesorji biologije z različnimi pristopi pri dijakinjah in dijakih na podlagi usvojenega znanja spodbujajo tudi razvoj kritičnega mišljenja, spremljajo razvoj različnih zmožnosti, spretnosti ter odgovornega odnosa do posameznic in posameznikov, družbe in biosfere. Obravnava bioloških konceptov skozi biološko eksperimentalno in terensko delo na primer pri dijakinjah in dijakih razvija poznavanje in razumevanje znanstvenih raziskovalnih metod s tem, da vključuje spoznavanje in izbiro ustreznih laboratorijskih postopkov, varno uporabo pripomočkov, upoštevanje možnih virov napak ter omejitev pri raziskovanju kompleksnih, dinamičnih živih sistemov, odgovorno ravnanje in podobno. Pri tem se poleg osnovne ravni preverja in vrednoti tudi doseganje zahtevnejših ravni znanja (*glej preglednico Ravni znanja*), ki vključuje uporabo znanja v analizah in vrednotenju ugotovitev raziskav ter v kritični presoji, kdaj se rezultati lahko posplošijo (npr. glede na raznolikost in variabilnost živih sistemov, izbor, velikost in število vzorcev, število ponovitev poskusa oz. opazovanja, možne vire napak in podobno). Usvojeno znanje je temelj za preverjanje uporabe le-tega, na primer pri samostojni analizi in argumentirani presoji znanstvenih spoznanj, njihove uporabe z vidika blaginje družbe, posameznika in biosfere na primer za strokovno presojo posegov v genome organizmov, oceno možnosti ustrezne uporabe in zlorabe biometričnih podatkov, prepoznavanje in vrednotenje sprememb v živih sistemih ter predvidevanje morebitnih posledic za splet biotskih procesov zaradi obsežnega uničevanja biodiverzitete, prepoznavanje in reševanje ključnih problemov, ločevanje strokovnih od poljudnih informacij ter strokovnih in normativnih mnenj, za presojo strokovne verodostojnosti virov, prepoznavanje psevdoznanosti, ljubiteljskih in podobnih dejavnosti.

Učiteljica/učitelj glede na uporabljene pristope v izobraževalnem procesu spremlja napredek dijakinj in dijakov pri razumevanju bioloških vsebinskih konceptov, razvoju spretnosti in veščin ter načrtuje preverjanje doseganja pričakovanih znanj oziroma rezultatov/dosežkov (pričakovane rezultate/dosežke *glej Učni načrt za predmet biologija, gimnazija, 2008: 52–56*). Pri tem glede na uporabljene pristope v obravnavi bioloških konceptov in zmožnosti dijakinj/dijakov strokovno avtonomno izbira ustrezne načine preverjanja in ocenjevanja izkazanega znanja, ki naj bo, bolj kot v poznavanje posameznih iz konteksta iztrganih podatkov, dejstev in opisov, usmerjeno v razumevanje celovitosti delovanja biosfere, temelječe na kompleksnem spletu biotskih procesov, v katerem so povezane vse ravni organizacije soodvisnih živih sistemov (od celic, organizmov do ekosistemov povezanih v biosfero).

Preverjanje in ocenjevanje sistemskega znanja o dinamičnih kompleksnih živih sistemih je zelo zahtevno. Na začetku terja veliko razmisleka in dela, ima pa pozitiven vpliv na kakovost učenja in znanja, saj zaobjame in v kontekstu poveže bistveno znanje o temeljnih bioloških konceptih v sistemsko razumevanje razvoja in delovanja biosfere (vključno s položajem in vlogo človeške vrste v njej) ter omogoča širitev in nadgrajevanje na zahtevnejše ravni znanja (*glej preglednico Ravni znanja*). Pri tem učiteljica/učitelj izhaja iz starosti dijakinj in dijakov, njihovih raznolikih zmožnosti, predznanj ter drugih dejavnikov, na podlagi katerih si ustvarja pričakovanja do njih, načrtuje dinamiko obravnave s smiselno uporabo ustreznih pristopov, preverjanje in ocenjevanje izkazanih pričakovanih znanj (dosežkov/rezultatov).

Kompleksna sistemska znanja biologije v različnih kontekstih omogočajo tudi razvijanje odgovorne uporabe znanja, zmožnosti samostojne presoje, vključevanja v družbene procese odločanja ter odgovornega ravnanja z živimi sistemi za ohranjanje spleta biotskih procesov, ki soustvarjajo življenjske razmere na Zemlji. Spremljanje doseganja spretnosti in veščin dijakinj in dijakov v biološkem izobraževanju je usmerjeno tudi na razvoj zmožnosti za varno uporabo tehnologij, komuniciranja, sodelovanja ter spodbujanje razvoja vrednot in odgovornega ravnanja ter drugih splošnih ciljev.

Predmetna komisija za spremljanje in posodabljanje učnih načrtov za biologijo ter pozneje Predmetna razvojna skupina za biologijo (PRS) je ob nedavnih konceptualnih posodobitvah učnega načrta za biologijo postavila tudi pričakovana znanja oz. pričakovane dosežke/rezultate (standarde znanja v osnovni šoli) ob koncu šolskega leta oziroma ob koncu izobraževanja. Izhajala je iz dosegljivih domačih analiz stanja (vsebinskih in drugih razsežnosti znanja), potreb glede na razvoj bioznanosti, izhodišč za posodabljanje učnih načrtov ter pregleda dosegljivih domačih in tujih izkušenj s področja biološkega izobraževanja. Pri tem je bilo v ospredju vprašanje, kako smiselno oblikovati zapise pričakovanih znanj oziroma pričakovanih dosežkov/rezultatov (oziroma standardov znanja v osnovni šoli), ki naj bi jih usvojile in izkazale šolajoče se populacije raznolikih posameznic/posameznikov, da ne bi omejevali katerega od vidikov znanja, razvoja odprtega sistemskega mišljenja, kakovosti učenja in poučevanja, funkcij in načinov preverjanja, strokovne avtonomije učiteljic/učiteljev ter razvoja predmeta in odzivanja na družbene potrebe.

Izobraževanje je kompleksen odprt proces, ki v spreminjajočem se družbenem kontekstu od učiteljic in učiteljev terja nenehno iskanje ustreznih rešitev. Večinoma vseh ni mogoče vnaprej predvideti ali predpisati vnaprejšnje rešitve, zato je ključno, da izobraževalni proces izvaja učiteljica/učitelj z dobrim disciplinarnim znanjem, znanjem specialne didaktike predmeta in splošne didaktike. Učiteljski poklic je poseben po tem, da vključuje sledenje razvoju, zato morajo učiteljice in učitelji imeti možnosti nenehnega izobraževanja, strokovnega in profesionalnega razvoja ter vključevanja v strokovne razprave o javnem šolskem sistemu, sodelovanja v razvoju predmeta in se odzivati na družbene potrebe po znanju.

Da bi preverjanje znanja biologije bolj usmerili v sodobni sistemski pristop kot v dogmatsko nizanje enostavno preverljivih informacij, opisov in dejstev, kar lahko vodi v krepitev neustrezne mehanske obravnave dinamičnih živih sistemov, nismo vnaprej na različnih ravneh zahtevnosti podrobno normirali (»standardizirali«) in drobili pričakovanega znanja oziroma dosežkov/rezultatov biologije (oz. standardov znanja v osnovni šoli), ampak smo ga odprto opredelili ob koncu letnika

Preglednica 1: Ravni znanja

	Zahtevnostna raven 1[*] *sposobnost za reproduciranje strokovnega znanja in za ponovno uporabo metod in spretnosti;*	
Strokovno znanje	*razumevanje temeljnih bioloških konceptov v povezavi s poznavanjem živih sistemov, bi*	
	poznavanje temeljnih bioloških konceptov in njihova razlaga na podlagi znanih primerov, reprodukcija strokovnega znanja in povezovanje tega znanja s koncepti;	
Raziskovanje	*opazovanje, primerjanje, izvajanje poskusov, uporaba modelov in različnih metod dela*	
	izvedba poskusa oz. raziskave po navodilih, strokovno ustrezno pisanje poročil o izvedbi poskusa oz. raziskave, ustrezna uporaba osnovnih metod dela, poznavanje in uporaba raziskovalnih metod in modelov, primerjava na podlagi postavitve ustreznih kriterijev, izdelava modelov;	
Komuniciranje	*urejanje in izmenjava strokovnih informacij*	
	poročanje drugim o lastnih spoznanjih in rezultatih dela, uporaba strokovnega jezika, ekstrakcija informacij iz lahko razumljivih besedil, shem in drugih virov ter predstavitev tako pridobljenih informacij drugim.	

* Zahtevnostna raven 1 je pogoj za napredovanje v višji razred.

	Zahtevnostna raven 2 *sposobnost uporabo strokovnega znanja, metod in spretnosti v novih kontekstih (vključno z uporabo strokovnega znanja, pridobljenega zunaj predmeta biologija);*	**Zahtevnostna raven 3** *sposobnost za samostojno obdelavo in vrednotenje novih strokovnih vsebin in problemov na osnovi prej pridobljenega znanja; sposobnost za samostojno razlaganje, raziskovanje, izdelavo modelov in zavzemanje stališč o problemih na podlagi strokovnih argumentov;*
oloških pojavov, strokovnih izrazov, principov in dejstev		
	uporaba biološkega znanja v preprostih novih kontekstih, opisovanje in razlaganje novih bioloških vsebin v povezavi z biološkimi koncepti, razlaganje bioloških vsebin na različnih ravneh organizacije živih sistemov, razlaganje znanih bioloških pojavov v povezavi s temeljnimi koncepti in znanimi dejstvi;	samostojna uporaba biološkega znanja v kompleksnih kontekstih, razlaganje novih strokovnih vsebin z različnih bioloških in naravoslovnih vidikov, samostojna uporaba, povezovanje in prehajanje na različne ravni organizacije bioloških sistemov pri razlaganju pojava;
	postavljanje bioloških raziskovalnih vprašanj in hipotez, načrtovanje, izvedba in razlaga rezultatov poskusov oz. raziskav, analiza zbranih podatkov, uporaba bioloških metod dela v novi situaciji, analiza podobnosti in razlik na podlagi postavitve ustreznih kriterijev, razlaga bioloških vsebin na podlagi modelov;	samostojno iskanje in postavljanje bioloških vprašanj oz. hipotez, interpretacija podatkov v povezavi z vprašanjem oz. hipotezo in z možnimi viri napak, samostojna izbira in priredba metod dela, kritično vrednotenje prednosti in omejitev modelov kot orodja za ponazoritev naravnih pojavov;
	uporaba različnih načinov prikazovanja pri strokovnem komuniciranju v pisni oz. ustni obliki, uporaba strokovnega jezika v novih kontekstih, prevajanje strokovnega jezika v vsakdanji jezik in nasprotno, razlikovanje med predstavami iz vsakdanjega življenja in naravoslovnimi znanstvenimi razlagami.	samostojno iskanje in uporaba različnih virov informacij pri učenju novih bioloških vsebin in reševanju bioloških problemov, samostojno argumentirano razpravljanje z uporabo strokovnega znanja in strokovno utemeljevanje predlogov za rešitev bioloških problemov.

oziroma izobraževanja. Pri opredelitvi smo izhajali iz bistvenih bioloških konceptov (koncepcij) in njihove povezanosti. Zajeli smo temeljna sistemska znanja biologije, ki so osnova za napredovanje v višji razred in doseganje višjih ravni znanja glede na zmožnosti dijakinj/dijakov (*glej preglednico Ravni znanja*). Ta znanja so tudi osnova za razvijanje zmožnosti, spretnosti in veščin. Učiteljice/učitelji kot strokovnjaki v izobraževalnem procesu ugotavljajo predznanja in spremljajo zmožnosti raznolikih posameznic/posameznic v šolajočih se populacijah, kar v različnih kontekstih tudi lahko vpliva na raven njihovih pričakovanj do njih in s tem povezano obravnavo, njeno dinamiko ter ocenjevanje izkazanega znanja na različnih ravneh. Spodnja preglednica Ravni znanja je bila sestavljena v predmetni razvojni skupini zato, da se s splošnimi opisi ravni izkazanih znanj uporablja kot splošna usmeritev pri načrtovanju in izvajanju preverjanja in ocenjevanja znanja. Glede na sposobnosti je želeno doseganje znanja na čim višji zahtevnostni ravni. Minimalni pogoj za napredovanje v višji razred je, da dijakinje in dijaki vsaj na zahtevnostni ravni 1* izkažejo razumevanje v učnem načrtu navedenih pričakovanih znanj (dosežkov/rezultatov).

Učiteljice in učitelji biologije pri preverjanju in ocenjevanju znanja (med izobraževalnim procesom in ob njegovem zaključku) izhajajo iz obravnave bioloških konceptov in njim podrejenih ciljev ter pričakovanih dosežkov/rezultatov v veljavnem učnem načrtu za biologijo, zmožnosti dijakinj/dijakov, glede na zakonodajo ter druge dejavnike, ki vplivajo na objektivnost, veljavnost in pravičnost ocenjevanja. Usklajevanja vseh teh in številnih drugih dejavnikov ter iskanja ustreznejših rešitev poganjajo nenehni razvoj izobraževanja, ki sloni na strokovnosti učiteljic in učiteljev ter odnosu do znanja v dinamičnem družbenem kontekstu.

Literatura in viri

1 *Bildungsstandards im Fach Biologie fur den Mittleren Schulabschluss. Dostopno na: http://www.kmk.org/fileadmin/veroeffentlichungen_beschluesse/2004/2004_12_16-Bildungsstandards-Biologie.pdf (15. 1. 2013).*

2 *Izhodišča posodabljanja učnih načrtov v osnovni šoli 2006–2008 (2008). Ljubljana: Zavod RS za šolstvo.*

3 *Moore, A. (2007). Biološko izobraževanje v hitro spreminjajočem se znanstvenem in socialno-ekonomskem kontekstu. V: GENI-alna prihodnost - genetika, determinizem in svoboda. Zbornik prispevkov mednarodnega posveta Biološka znanost in družba. Ljubljana: Zavod RS za šolstvo in Ministrstvo RS za šolstvo in šport, str. 224-228.*

4 *Trontelj, J. (2008). O rastočem pomenu biološkega znanja. V: Ekosistemi – povezanost živih sistemov. Zbornik prispevkov mednarodnega posveta Biološka znanost in družba. Ljubljana: Zavod RS za šolstvo, str. 9–11.*

5 *Vilhar, B., Zupančič, G., Vičar, M., Sojar, A., Devetak, B., Gilčvert Berdnik, D. (2008). Učni načrt za predmet biologija, gimnazija, splošna gimnazija. Sprejeto na Strokovnem svetu RS za splošno izobraževanje (na 111. seji, 14. 2. 2008). Dostopno tudi na: http://portal.mss.edus.si/msswww/programi2010/programi/media/pdf/ucni_nacrti/UN_BIOLOGIJA_gimn.pdf (15. 1. 2013).*

6 *Vilhar, B., Zupančič, G., Vičar, M., Sojar, A., Devetak, B., Gilčvert Berdnik, D. (2008). Učni načrt za predmet biologija, gimnazija, klasična in strokovna gimnazija. Sprejeto na Strokovnem svetu RS za splošno izobraževanje (na 111. seji, 28. 2. 2008). Dostopno tudi na: http://portal.mss.edus.si/msswww/programi2010/programi/media/pdf/ucni_nacrti/UN_BIOLOGIJA_gimn.pdf (15. 1. 2013).*

7 *Vilhar, B., Zupančič, G., Vičar, M., Sojar, A., Devetak, B., Gilčvert Berdnik, D. (2008). Učni načrt za predmet biologija, osnovna šola. Posodobljeni učni načrt je Strokovni svet RS za splošno izobraževanje določil na 114. seji leta 2008 in se seznanil z vsebinskimi in redakcijskimi popravki tega učnega načrta na 140. seji 17. februarja 2011. Dostopno tudi na: http://www.mizks.gov.si/fileadmin/mizks.gov.si/pageuploads/podrocje/os/prenovljeni_UN/UN_Biologija.pdf (15. 1. 2013).*

8 *Vogrinc, J. (2011). Ali družboslovec potrebuje kakovostno naravoslovno izobrazbo? V: Kranjc, Andrej (ur.), Posvet o poučevanju naravoslovja, Ljubljana: SAZU, 16. decembra 2009. Zbirka Znanje kot vrednota: izobraževanje za 21. stoletje; Ljubljana: SAZU, str. 52-57. Dostopno na: http://vpo.sazu.si/simages/420-139-0.pdf%20%20(13« http://vpo.sazu.si/simages/420-139-0.pdf (13. 3. 2013).*

9 *Zupančič, G., Vilhar, B., Vičar, M., Devetak, B., Podobnik, A., Gilčvert Berdnik, D., Ambrožič Avguštin, J., Vrezec, A. (2009). Vizija razvoja predmeta biologija. Interno gradivo Predmetne razvojne skupine za biologijo. Ljubljana: Zavod RS za šolstvo.*

10 *Žakelj, A. (2011). Posodabljanje učnih načrtov kot stalna praksa sodobnih šolskih sistemov. V: Povezanost procesov: Zbornik prispevkov mednarodnega posveta Biološka znanost in družba, Ljubljana, 6. in 7. oktober 2011. Ljubljana: Zavod RS za šolstvo, str. 152-156. Dostopno na: http://www.zrss.si/dokumenti/zajavnost/ZbornikBioznanostindruzbaPovezanost_procesov.PDF (11. 3. 2013)*

Primeri razvijanja in vrednotenja znanja

2.1 Delovanje celice

2.1.1 Zakaj so celice tako majhne?

Dr. Barbara Vilhar, Biotehniška fakulteta Ljubljana
Sonja Marušič, Srednja šola Veno Pilon Ajdovščina

Povzetek

Razumevanje toplotnega gibanja delcev in difuzije je povezano z razlago številnih pojavov v živi naravi, med drugim tudi majhnosti celic. Dijaki lahko nekatere principe difuzije raziščejo z izvedbo poskusa, pri katerem opazujejo časovni potek difuzije v agarju v petrijevkah. Gradivo vsebuje navodila za pripravo in izvedbo vaje s primeri pričakovanih rezultatov. Iz rezultatov poskusa so izpeljana vprašanja in problemske naloge, ki dijakom omogočajo povezovanje znanja in ki jih učitelj lahko uporabi kot del opisane laboratorijske vaje, kot domačo nalogo, za razpravo v razredu ali za preverjanje in ocenjevanje znanja.

Trajanje izvedbe

Vaja je zasnovana tako, da lahko učitelj izvedbo dejavnosti prilagodi razpoložljivemu času in načinu dela. Laboratorijski poskus se lahko izvede v eni šolski uri. Vaja je primerna tudi za medpredmetno povezovanje z matematiko, fiziko in kemijo ali za naravoslovni dan.

Povezava z biološkimi koncepti in cilji iz učnega načrta za biologijo

Vaja je povezana z različnimi vsebinskimi sklopi pri predmetu biologija. Glavne povezave so:

- B – Raziskovanje in poskusi (B1-3, B1-4, B1-5, B1-8, B1-12)
- C – Zgradba in delovanje celice (C1-3, C1-4)
- F – Zgradba in delovanje organizmov (F1-1, F3-3, F4-45, F4-49)
- L – Kako deluje znanost (L1-5)
- P – Procesni cilji (P-1, P-2, P-4, P-15)

Medpredmetne povezave:

- *fizika:* zgradba snovi in temperatura, notranja energija in toplota (toplotno gibanje delcev)
- *kemija*: ravnotežja v vodnih raztopinah (baze, kisline, pH indikatorji)
- *matematika*: potence in koreni, funkcije (linearna funkcija, korenska funkcija), linearne in nelinearne povezave med spremenljivkami, statistika (prikaz podatkov v preglednicah in grafih, aritmetična sredina)

Problem razumevanja majhnosti celic

Celice kot osnovna gradbena in funkcionalna enota živega so zelo majhne. Njihova majhnost je sicer sprva učencem težko predstavljiva, vendar pa lahko postopoma

zgradimo predstavo o dejanski velikosti celic, na primer z uporabo lupe ali stereolupe kot vmesne stopnje opazovanja med prostim očesom in mikroskopom. Ob tem je seveda zanimivo vprašanje, zakaj so celice majhne oziroma kateri dejavniki omejujejo njihovo velikost. V učbenikih se odgovor na to vprašanje pogosto osredotoča na razmerje med površino in prostornino celice, pri čemer se omenja tudi hitrost difuzije (na primer slovenski gimnazijski učbeniki: Sušnik in sod., 1974a: 251–252; Stušek in sod., 1997: 110–111; Dermastia in Turk, 2008: 104; gimnazijski učbenik v ZDA: Miller in Levine, 2006: 242–243). Razumevanje, kako deluje difuzija, je za učence pogosto težavna naloga.

Pri »klasičnem« šolskem poskusu o dejavnikih, ki omejujejo velikost celic, uporabljamo kocke agarja, pH-indikator ter kislino ali bazo. Pri nas je priljubljena izvedba s kockami agarja s fenolftaleinom, ki jih položimo v raztopino NaOH (na primer: Sušnik s sod., 1974: 185–186; Drašler s sod., 2003: 33). Pri tem kocke različnih velikosti uporabimo kot modele različno velikih celic. Učenci kocke po določenem času namakanja v raztopini NaOH (običajno po 10 minutah) razrežejo in izmerijo širino obarvanega roba ter ugotovijo, da so pri vseh velikostih celic hidroksidni ioni prodrli enako globoko v agar.

Umestitev poskusa v pouk

Poskus je dovolj preprost, da je primeren za izvedbo v prvem letniku gimnazije.

Ker poskus kot osrednji problem obravnava vprašanje o majhnosti celic, je smiselno, da dijaki pred izvedbo vaje spoznajo osnove zgradbe in delovanja celic. Priporočljivo je, da učitelj pred izvedbo poskusa dijake seznani s temeljnimi principi toplotnega gibanja delcev in difuzije.

Sicer lahko učitelj poskus izvede tudi pri drugih učnih vsebinah, na primer pri obravnavanju življenjskih problemov, ki izhajajo iz večcelične zgradbe telesa (pomen transportnih sistemov, težave pri izmenjavi plinov ipd.).

V okviru maturitetnega programa lahko dijaki poskus izvedejo kot poglobljeni raziskovalni projekt. Poskus se lahko vključi tudi v izvedbo naravoslovnega dneva.

Pogosta napačna predstava dijakov je, da se delci gibajo premo sorazmerno s časom, v določenem času opravijo določeno pot, v dvakrat daljšem času dvakrat daljšo pot.

Predstavljeno dejavnost lahko izpeljemo v eni šolski uri na podlagi delovnega lista Zakaj so celice majhne, dijaki rezultate uredijo in obdelajo doma ter napišejo poročilo. Izdelana poročila lahko ocenimo.

Glede na pomembnost razumevanja koncepta difuzije, transporta snovi v celici in v organizmu, pa lahko poljubno poglabljamo teme, ne le v prvem letniku gimnazije, temveč tudi pozneje, v sklopu Zgradba in delovanje organizmov.

Metodo, ki jo dijaki spoznajo pri tem poskusu, lahko uporabijo za reševanje problema, ki si ga v zvezi z difuzijo zastavijo sami. Lahko spremenimo razmere, v katerih poteka difuzija (različne temperature, različna gostota agarja, različna koncentracija snovi, ki difundira), ali jo kombiniramo z drugimi, smiselno povezanimi vajami, npr. z vajami, ki so opisane v priročniku Znanost gre v šolo, s poskusom o plazmolizi in deplazmolizi celic, s proučevanjem delovanja katalizatorjev ipd. V tem primeru se trajanje dejavnosti logično podaljša. Takšno obliko je smiselno uporabiti v okviru projektnega dne.

Priprava materiala za izvedbo poskusa

1-odstotna raztopina fenolftaleina

Fenolftalein je v vodi slabo topen, zato ga raztopimo v alkoholu.

1 g fenolftaleina raztopimo v 100 ml 95-odstotnega etanola.

3-odstotni agar s fenolftaleinom

V 1000 ml destilirane vode zmešamo 30 g agarja v prahu.

Počasi segrevamo skoraj do vretja, dokler se raztopina povsem ne zbistri. Med segrevanjem raztopino ves čas mešamo, da se agar ne prismodi. Uporabimo lahko grelno ploščo z magnetnim mešalom, pri čemer hitrost mešanja nastavimo tako, da mešanje ni premočno in da ne nastajajo mehurčki.

Ko se raztopina agarja nekoliko ohladi, dodamo 10 ml 1-odstotne raztopine fenolftaleina in zmešamo. Če je raztopina rožnata, ji med mešanjem po kapljicah dodajamo 0,1 M HCl do razbarvanja.

Vsak dijak ali par dijakov potrebuje eno petrijevko, v kateri je agar s fenolftaleinom. Zaradi lažjega merjenja širine obarvanega območja je bolje uporabiti plastične petrijevke, ki imajo tanjše dno kot steklene. Plastične petrijevke je tudi lažje zložiti v skladovnico; po dejavnosti jih lahko pomijemo in ponovno uporabimo.

V vsako petrijevko nalijemo agar s fenolftaleinom do globine 5 mm. Uporabimo lahko petrijevke s premerom 7 cm (približno 20 ml agarja na petrijevko) ali 9 cm (približno 35 ml agarja). Petrijevke ohladimo na ravni površini in pokrijemo takoj, ko se agar ohladi, da preprečimo izsuševanje agarja.

Končna koncentracija: *3-odstotni agar, 0,3 mM (0,01-odstotni) fenolftalein*

Petrijevke z agarjem lahko zložimo v skladovnico in zapremo v plastično vrečko, da preprečimo izhlapevanje, ter več dni hranimo v hladilniku, pri čemer dno petrijevk obrnemo navzgor (zgoraj agar, spodaj pokrov). S tem preprečimo, da bi kapljice kondenzirane vode kapljale s pokrova na površino agarja. Ker je hitrost difuzije odvisna od temperature, petrijevke več ur pred izvedbo vaje ali čez noč postavimo na sobno temperaturo.

0,2 M raztopina NaOH

8 g NaOH raztopimo v 1000 ml destilirane vode.

Če dijaki med izvedbo poskusa sami nakapljajo raztopino NaOH v luknjico v agarju, raztopino nalijemo v stekleničke s kapalko. Vsak dijak ali par dijakov potrebuje eno stekleničko.

Priporočila in opozorila

Poskus izvedemo tako, da vsak dijak ali vsak par dijakov prejme eno petrijevko z agarjem.

Pred začetkom poskusa je treba v agar na sredini vsake petrijevke izrezati okroglo luknjico za nanos raztopine NaOH. Premer luknjice naj bo približno 15 mm. Agar

prerežemo s plutovrtom ali manjšo epruveto s čim tanjšo steno. Krožec agarja previdno odstranimo s spatulo, pri čemer pazimo, da ne poškodujemo roba luknjice. To lažje izvedemo s spatulo z zaokroženim robom kot s spatulo s oglatim robom. V razpoke in poškodbe v agarju lahko namreč NaOH hitreje prodira, kar moti natančnost meritev.

Dijaki lahko sami naredijo luknjice v agar, pri čemer je dobro imeti nekaj rezervnih petrijevk za primer, da agar poškodujejo. Lahko pa učitelj ali laborant krožce izreže, preden razdeli petrijevke dijakom. To opravi največ nekaj ur pred poskusom, da se rob luknjice ne zasuši in razpoka. Predhodno izrezovanje luknjic skrajša čas, potreben za izvedbo vaje.

Pred nanosom NaOH petrijevko položimo na list belega papirja, saj je tako obarvani rob v agarju lažje viden kot na nebeli klopi. Petrijevko postavimo na mesto, na katerem bo stala med izvedbo poskusa (med poskusom petrijevke ne premikamo). Postavitev petrijevke mora omogočati, da lahko dijak pri meritvi širine obarvanega roba pogleda navpično navzdol v petrijevko. Hkrati naj ima dijak na klopi dovolj prostora, da lahko med zaporednima meritvama bere in izpolnjuje delovni list.

Na začetku poskusa je treba nakapljati raztopino NaOH v luknjico na sredini petrijevke. Za to potrebujemo dobro kapalko, ki ne »pušča«. Pazimo, da kapljica NaOH ne pade na agar. Priporočljivo je, da pri nanosu NaOH roko, v kateri držimo kapalko, podpremo z drugo dlanjo, ki je naslonjena na klop. Tako je roka med kapljanjem bolj mirna. Luknjico napolnimo skoraj do vrha. Nanos NaOH lahko opravita učitelj in laborant, ki zaporedno obiščeta vsakega dijaka ali par dijakov, ki ima petrijevko. Lahko pa dijakinje in dijaki sami nakapljajo raztopino NaOH v luknjico v agarju, pri čemer uporabijo stekleničko s kapalko v zamašku. Takoj po nanosu na stekleničko privijejo zamašek, da se NaOH ne polije. Če se med izvedbo poskusa gladina tekočine v luknjici močno zniža, po potrebi dodamo nekaj kapljic raztopine NaOH.

Poskus izvajamo pri sobni temperaturi. Ker temperatura vpliva na hitrost difuzije, pri izvedbi poskusa izmerimo temperaturo. V ta namen več ur pred vajo (ali čez noč) na klop v učilnici postavimo čašo z vodo. Med izvedbo poskusa izmerimo temperaturo vode, ki jo dijakinje in dijaki zapišejo na delovni list.

NaOH je zelo korozivna snov, ki lahko povzroči opekline kože in poškodbe oči. Pri pripravi raztopine NaOH delamo previdno in uporabimo ustrezno zaščito (halja, rokavice, očala). Pazljivo ravnamo tudi z vročim agarjem.

Pri izvedbi vaje je priporočljiva uporaba halje, zaščitnih rokavic in zaščitnih očal zaradi dela z raztopino NaOH, posebej če dijaki sami nakapljajo raztopino NaOH v luknjico v agarju.

Vpliv temperature na hitrost difuzije

Poskus lahko razširimo z izvedbo pri različnih temperaturah, npr. pri 0°C, pri sobni temperaturi okoli 20°C in pri 30°C.

Za izvedbo pri temperaturi okoli 0°C lahko uporabimo plastično posodo z ledom. Če je temperatura ledu prenizka, lahko agar zamrzne, odstopi od dna petrijevke in povleče raztopino NaOH pod agar, kar moti meritve. Zato led pred izvedbo vaje vzamemo iz zamrzovalnika, da se nekoliko ogreje.

Za izvedbo vaje pri temperaturah okoli 30°C lahko uporabimo grelec za terarij, ki ga položimo v pladenj in zasujemo z mivko. Grelec priključimo vsaj pol ure pred začetkom vaje, da se temperatura peska ustali. Pri višji temperaturi se agar hitro izsušuje. Da zmanjšamo izhlapevanje vode, petrijevko med potekom poskusa pokrijemo.

Potrebščine

Poskus lahko izvede vsak dijak sam ali pa dijaki delajo v parih. Vsak dijak ali par dijakov potrebuje:

- petrijevko za agarjem, z izrezano luknjico v sredini,
- list belega papirja (na katerega položimo petrijevko med merjenjem),
- pripomoček za merjenje dolžin (kratek kos milimetrskega papirja),
- uro s sekundnim kazalcem,
- (0,2 M raztopino NaOH v steklenički s kapalko – če dijaki sami nanašajo raztopino NaOH v luknjico),
- kalkulator, pribor za risanje grafov (ravnilo, lahko tudi barvice),
- delovni list.

Opozorilo učitelju

V spletni učilnici za biologijo, na spletnem naslovu *skupnost.sio.si/course/view.php?id=31* bo dostopen delovni list z vsemi nalogami, kar bo omogočalo učiteljem poljuben izbor nalog za načrtovano učno uro.

Tu bodo dostopne tudi Excelove tabele in grafi, ki so programirani tako, da omogočajo učitelju vnos podatkov meritev dijakov, program sam izriše grafe in statistično obdela podatke (standardne napake in standardno deviacijo).

Delovni list 1

Zakaj so celice majhne?

Ime in priimek: _____ Razred (skupina): _____

Datum izvedbe vaje: _____

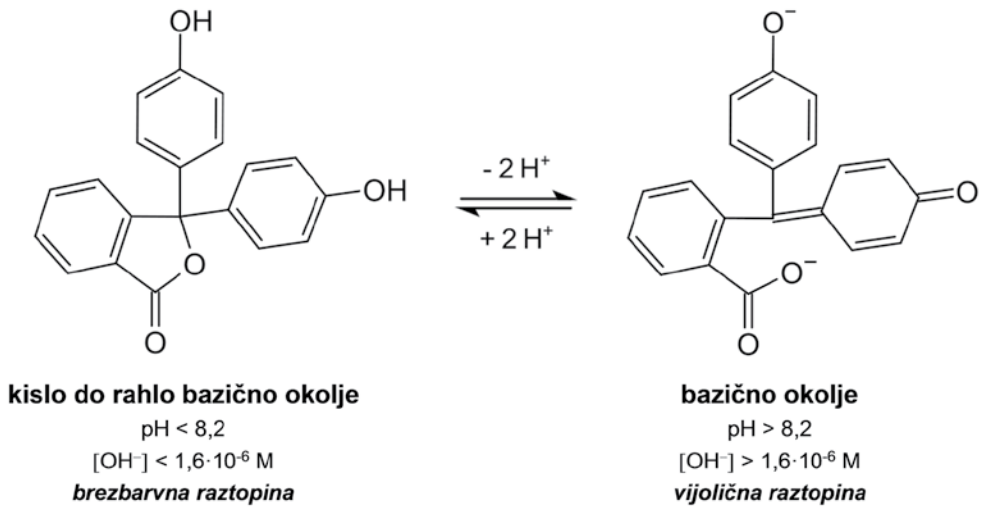
Celica je osnovna gradbena in funkcionalna enota vseh organizmov. Nekateri organizmi so enocelični, drugi, tudi človek, pa večcelični. Vendar pa so vse celice zelo majhne. Večinoma so premajhne, da bi jih lahko opazili s prostim očesom.

1. *Zakaj so celice tako majhne? Zakaj nobena celica ni zelo velika, recimo kot kocka s stranico 3 cm? Napiši svojo razlago.*

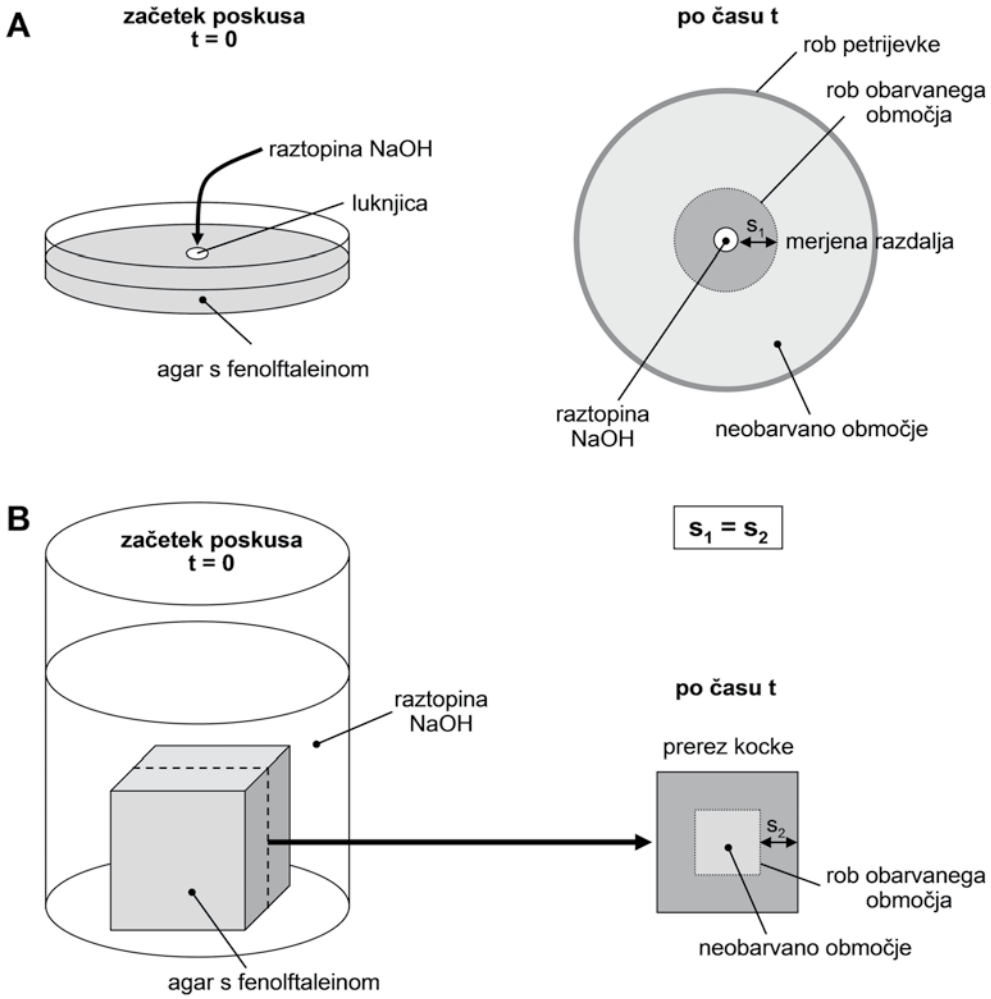
Pri tem poskusu bomo s pomočjo poskusa poiskali odgovor na zgornje vprašanje. Pri tem bomo kot *model celice* uporabili agar v petrijevki. Pri bioloških znanstvenih raziskavah pogosto uporabljajo modele za preučevanje biotskih procesov. Živi sistemi so namreč zelo zapleteni in v njih hkrati poteka veliko procesov. Z modeli lahko dogajanje v živih sistemih ponazorimo na poenostavljen način, tako da opazujemo samo en proces ali nekaj izbranih procesov, ki nas zanimajo. Poleg fizičnih modelov, kakršen je agar kot model celice, sodobni biologi pogosto uporabljajo računalniške modele. Pri tem dogajanje v živih sistemih opišejo z matematičnimi, fizikalnimi in kemijskimi formulami, kar jim omogoči preučevanje medsebojne odvisnosti različnih procesov na osnovi računalniških simulacij.

Agar je polisaharid, ki ga pridobivamo iz morskih alg. V suhi trdni obliki je podoben koruzni moki. Ko agar segrejemo v vodni raztopini do vrelišča in nato ohladimo, polisaharidne molekule oblikujejo mrežo. Zaradi zamreženja je ohlajen agar podoben želatini.

Pri tem poskus bomo uporabili agar, v katerem je raztopljen **fenolftalein**. Fenolftalein je pH-indikator. V kislem do rahlo bazičnem okolju je fenolftalein brezbarven, v močno bazičnem pa vijolične barve (slika 1).



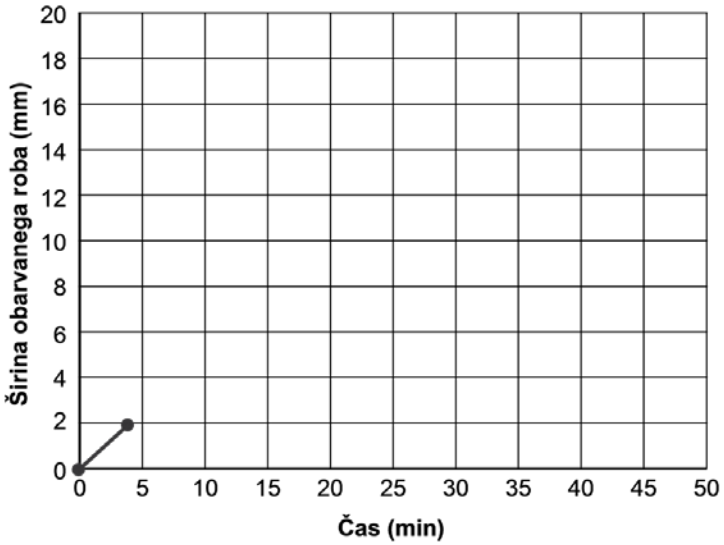
Slika 1: Barva fenolftaleina je odvisna od pH-vrednosti raztopine.



Slika 2: Primerjava dveh različic izvedbe poskusa. NaOH lahko pronica iz središča v okoliški agar ali iz okolice v notranjost kocke agarja; hitrost difuzije bo v obeh primerih enaka, zato velja, da je $s_1 = s_2$.

2. Napoved rezultatov poskusa

Predstavljaj si, da izvajamo poskus z agarjem v petrijevki. Po 4 minutah izmerimo širino obarvanega roba v petrijevki, ki znaša 2 mm. Ta točka je že narisana na spodnji graf. Razmisli, kako širok bo približno obarvani rob po 36 minutah, in svoje pričakovanje (napoved) doriši v spodnji graf. Razloži, na temelju katerih argumentov si v graf dorisal takšno napoved.



Graf 1: Hitrost širjenja obarvanega kolobarja (napoved rezultatov poskusa)

Potrebščine

- petrijevka z agarjem
- list belega papirja (na katerega položimo petrijevko med merjenjem)
- pripomoček za merjenje dolžine (kratek kos milimetrskega papirja)
- ura s sekundnim kazalcem
- (0,2 M raztopina NaOH v steklenički s kapalko)
- kalkulator, pribor za risanje grafov (ravnilo, lahko tudi barvice)
- delovni list

Izvedba poskusa

Petrijevko postavi na kos belega papirja in jo odkrij. Petrijevko postavi na mesto, kjer bo stala med izvedbo poskusa (med poskusom petrijevke ne premikajte).

Pripravi uro za merjenje časa. V luknjico v agarju previdno nakapljaj 0,2 M raztopino NaOH, tako da je luknjica skoraj do vrha polna. Pazi, da kapljica NaOH ne pade na površino agarja. Začni meriti čas.

Izmeri širino obarvanega območja okrog luknjice (glej oznako *merjena razdalja* na sliki 2A) po 1 min, 4 min, 9 min, 16 min, 25 min in 36 min. Pri meritvi košček milimetrskega papirja zelo približaj agarju, pazi pa, da se ga ne dotakneš. Širino obarvanega območja izmeri na 0,5 mm natančno. Rezultate meritev vnesi v preglednico na strani *Rezultati poskusa*.

Pod preglednico sta mreži za grafični prikaz rezultatov meritev, na katerih so osi že označene. Na levo mrežo (oznaka osi *x*: Čas) nariši krivuljo, ki ponazarja rezultate tvojih meritev.

V stolpec *Kvadratni koren časa* v preglednici vpiši števila, ki ustrezajo kvadratnim korenom časov meritev. Nato na desno mrežo (oznaka osi x: *Kvadratni koren časa*) vriši ustrezno krivuljo. Uporabi enake simbole in barvo krivulje kot na levem grafu.

Na temelju rezultatov meritev, ki so jih izvedli vsi dijaki v razredu, za vsak čas meritve izračunaj povprečno izmerjeno širino obarvanega območja in jo vnesi v ustrezno polje v preglednici (stolpec *Povprečje meritev vseh dijakov*). Število ponovitev poskusa ustreza številu petrijevk, ki so bile vključene v poskus. Krivulji s povprečnimi vrednostmi vriši na oba grafa. Ustrezno dopolni legendo pod grafoma.

Na hitrost potovanja snovi z difuzijo vpliva temperatura. Na prostor nad preglednico vpiši temperaturo, pri kateri si izvedel poskus.

V daljših obdobjih med dvema meritvama lahko sproti rišeš graf in izpolnjuješ delovni list.

Naloge med izvedbo poskusa

Poskus bi lahko izvedli tudi tako, da bi v raztopino NaOH položili kocke agarja, ki bi jih nato ob različnih časih od začetka poskusa prerezali in izmerili širino obarvanega območja (glej sliko 2B). Sklepamo lahko, da bi v kocko hidroksidni ioni (OH^-) prodirali enako hitro, kot prodirajo iz luknjice v agarju v petrijevki navzven, kar opazujemo in merimo med izvedbo poskusa. Shema (slika3), ki prikazuje povezavo med hitrostjo potovanja hidroksidnih ionov po agarju v petrijevki in njihovo potovanje v notranjost kock iz agarja različnih velikosti, je prikazana na posebni strani. Na to shemo za vsak čas meritve vriši širino obarvanega območja za petrijevko in vse tri kocke.

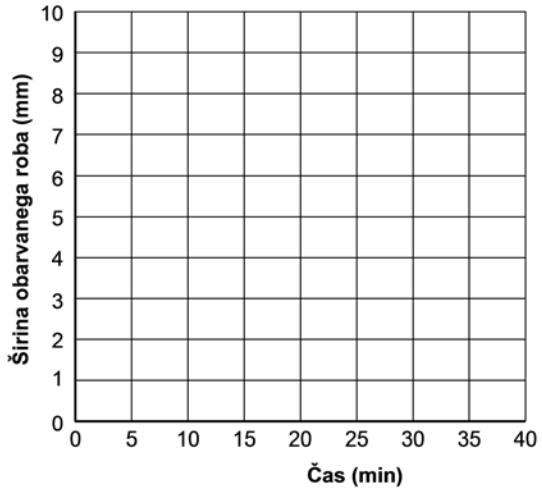
Rezultate poskusa lahko uporabimo tudi za oceno deleža prostornine, ki se po določenem času obarva pri kockah s stranico 1 cm, 2 cm in 3 cm. Princip izračuna je prikazan na strani 29. Preglednici 2 in 3 ustrezno izpolni in nariši graf 4.

3. Rezultati poskusa

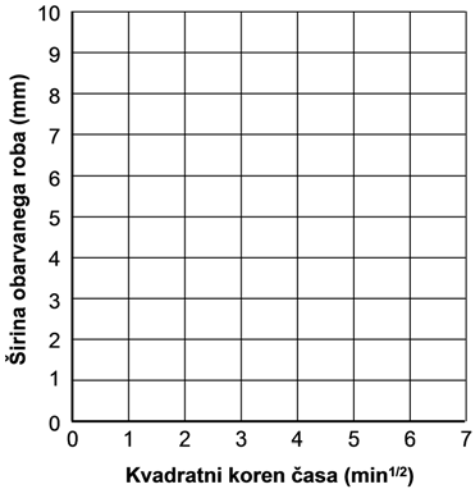
Temperatura: _____

Preglednica 1: Širina obarvanega roba v odvisnosti od kvadratnega korena časa in povprečje meritev vseh dijakov

		Širina obarvanega roba (mm)	
Čas (min)	**Kvadratni koren časa ($min^{1/2}$)**	**Moja meritev**	**Povprečje meritev vseh dijakov**
0	0	0	0
1			
4			
9			
16			
25			
36			
	Število ponovitev poskusa		



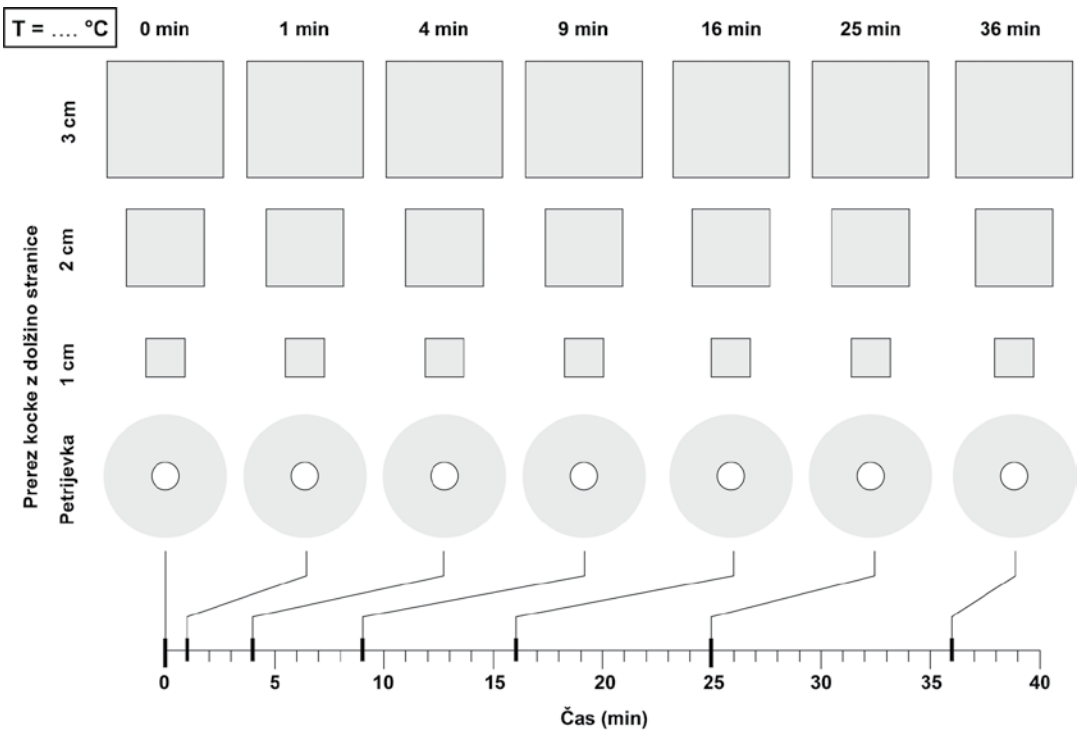
Graf 2: Širina obarvanega roba v odvisnosti od časa



Graf 3: Širina obarvanega roba v odvisnosti od kvadratnega korena časa

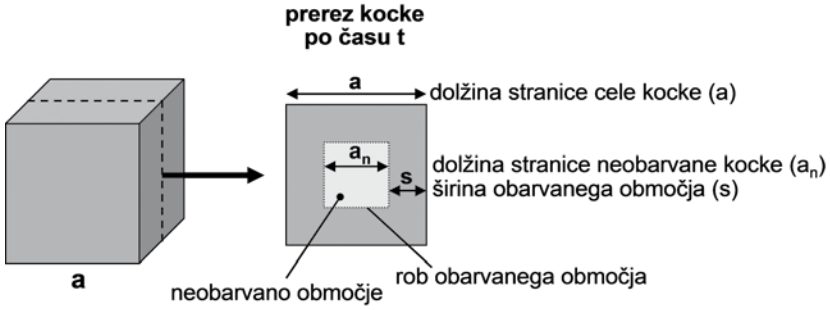
Legenda:

.....



Slika 3: Shema, ki prikazuje povezavo med hitrostjo potovanja hidroksidnih ionov po agarju v petrijevki in njihovo potovanje v notranjost kock iz agarja različnih velikosti.

4. Kocke agarja



Slika 4: Slika cele in prerezane agarne kocke

5. Kocka s stranico a = ____ cm

Prostornina cele kocke $V = a^3$ = _____ cm^3

Pazi! Enote so centimetri (cm)!

T = _____ °C

Preglednica 2: Širina obarvanega roba in delež obarvane prostornine v odvisnosti od časa

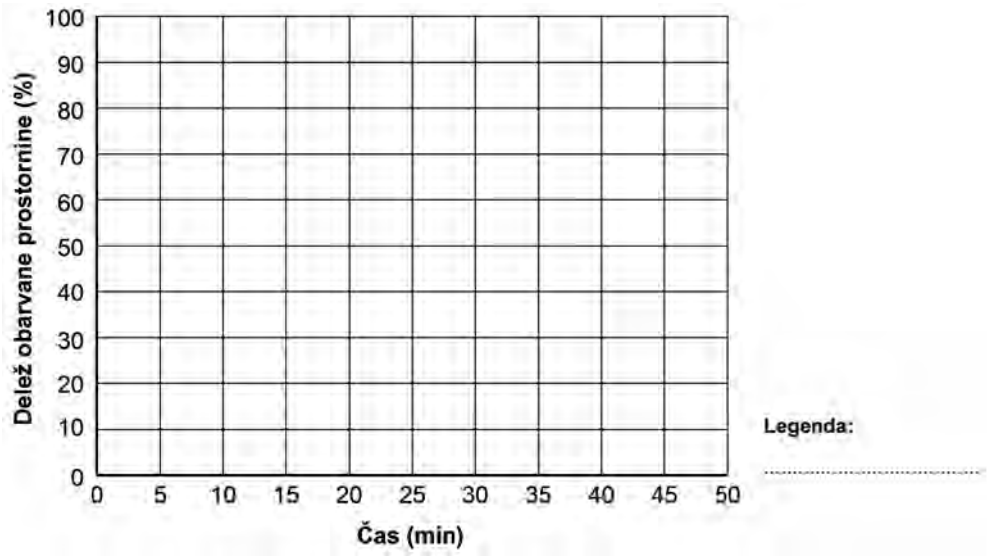
Čas (min)	**Širina obarvanega roba** s **(cm)**	**Stranica neobarvane kocke** $a_n = a - 2s$ **(cm)**	**Prostornina neobarvane kocke** $V_n = a_n^3$ **(cm³)**	**Prostornina obarvanega roba** $V_o = V - V_n$ **(cm³)**	**Delež obarvane prostornine** $d = V_o/V$ **x 100 (%)**
0	0	0	0	0	0
1					
4					
9					
16					
25					
36					

6. Podatki za vse tri kocke

T = _____ °C

Preglednica 3: Delež obarvane prostornine v odvisnosti od dolžine stranice kocke

	Delež obarvane prostornine (%)		
Čas (min)	**Kocka** a **= 1 cm**	**Kocka** a **= 2 cm**	**Kocka** a **= 3 cm**
0			
1			
4			
9			
16			
25			
36			



Graf 4: Delež obarvane prostornine v odvisnosti od dolžine stranice kocke

7. **Poskus: Agar v petrijevki**

Opiši rezultate opravljenega poskusa v petrijevki. Pri tem opiši tudi obliko krivulje na grafu, ki prikazuje povezavo med časom in širino obarvanega roba v petrijevki.

8. *Primerjaj obliko krivulj na grafih, ki prikazujeta povezavo med časom in širino obarvanega roba v petrijevki ter povezavo med* kvadratnim korenom časa *in* širino obarvanega roba. *Pojasni, kaj lahko sklepamo na temelju primerjave oblike obeh krivulj.*

9. *Primerjaj graf, ki prikazuje rezultate poskusa v petrijevki, z grafom, ki si ga narisal kot napoved rezultatov poskusa. Ali si pravilno napovedal rezultat? Komentiraj podobnost oz. različnost med obema grafoma.*

10. *Primerjaj rezultate svojega poskusa z rezultati svojih sošolcev. Ali so vse krivulje na grafih podobne ali katere izstopajo? Komentiraj.*

11. Kocka agarja

Preglej rezultate obeh nalog, pri katerih si kot model uporabil kocko agarja: risanje obarvanega roba in računanje deleža obarvane prostornine (preglednica 3 in graf 4). Opiši, kaj si pri teh nalogah ugotovil.

12. *Kocke agarja lahko obravnavamo kot močno povečan model celice. Pri tem hidroksidni ioni predstavljajo molekule, ki jih celica sprejme skozi celično membrano (npr. molekule glukoze) in nato potujejo proti notranjosti celice. Na temelju rezultatov vseh treh nalog o kockah agarja sklepaj, ali je oskrba vseh delov celice (tudi tistih najbolj na sredini celice) zadovoljiva oz. ustrezna pri majhni ali pri veliki celici. Razloži svoje ugotovitve.*

13. *Na temelju enačbe (6 - str. 35) izračunaj difuzijski koeficient D za hidroksidne ione. Če ste poskus izvedli pri več temperaturah, uporabi rezultate meritev pri tisti temperaturi, ki je najbližje 20 °C. Za oceno povprečne prepotovane razdalje uporabi razdaljo s_m, ki ste jo izmerili pri najdaljšem času. Pri računanju pazi na enote. Zaradi lažje primerjave hidroksidnih ionov z drugimi snovmi, ki jo bomo opravili v nadaljevanju vaje, izrazi vrednost D z enoto m^2/s.*

Ocenjeni difuzijski koeficient D za hidroksidne ione pri _____ °C je _____ m^2/s.

Prostor za izpis danih podatkov in za izračun:

14. *Ali se pri času $t = \infty$ na sliki 5, ko je doseženo dinamično ravnovesje in je koncentracija nanesenih delcev po vsem agarju enaka, delci nehajo gibati in se ustavijo? Razloži svoj odgovor.*

15. *Za poskus smo uporabili agar v petrijevki. Predstavljaj si, da bi poskus izvedli tako, da bi v petrijevko nalili malo vode z raztopljenim fenolftaleinom, nato pa bi na sredino petrijevke kanili kapljico NaOH. Ali bi bila takšna izvedba poskusa ustrezna za opazovanje difuzije? Razloži.*

16. *Albert Einstein je leta 1905 poleg zgoraj omenjenega članka o gibanju delcev objavil tudi več drugih zelo pomembnih znanstvenih člankov. Zato leto 1905 imenujemo tudi Einsteinovo »čudežno leto«. Razišči, kaj so bile poleg zgoraj omenjenega matematičnega modela gibanja delcev druge Einsteinove pomembne ugotovitve v tem čudežnem letu.*

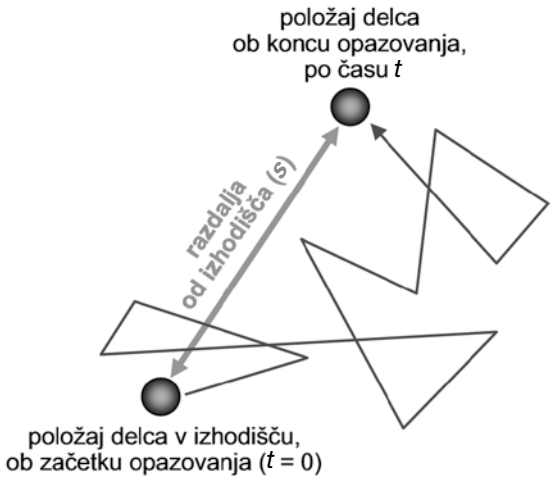
Vrednotenje rezultatov

Na temelju rezultatov meritev hitrosti difuzije, ki so jih prispevali vsi dijaki, smo izračunali povprečne vrednosti in narisali ustrezne grafe. Zdaj se lahko lotimo ugotavljanja, ali so rezultati poskusa v skladu z znanimi podatki o toplotnem gibanju delcev z difuzijo in do kakšnih sklepov lahko pridemo.

Princip potovanja delcev z difuzijo

Pri poskusu smo merili hitrost potovanja hidroksidnih ionov (OH^-) po agarju – ogledali smo si en primer difuzije. Seveda znanstvenike zanima, kako lahko na splošno opišemo toplotno gibanje delcev, ki ga imenujemo tudi Brownovo gibanje in na katerem temelji difuzija. K razumevanju tega pojava je pomembno prispeval Albert Einstein, ki je leta 1905 v znanstvenem članku predstavil matematični model za opis gibanja toplotnih delcev.

Vsak delec neprestano trka z drugimi delci in zato spreminja smer svojega potovanja (slika 5). Po določenem času *t* je delec od izhodišča, kjer smo ga začeli opazovati, oddaljen za skupno prepotovano razdaljo, ki jo bomo v nadaljevanju označevali s črko *s*.



Slika 5: Gibanje delca. Delec neprestano trka z drugimi delci in zato spreminja smer svojega gibanja. Dejansko pot delca na sliki prikazuje tanka puščica. Na vsakem »prelomu« ravne črte je opazovani delec trčil z drugimi delci. Po določenem času *t* je delec od izhodišča, kjer smo ga začeli opazovati, oddajen za skupno prepotovano razdaljo *s* (debela dvojna puščica).

Einstein in pozneje drugi znanstveniki so ugotovili, da obstaja naslednja povezava med časom potovanja (t) in povprečno razdaljo od izhodišča (s_p), ki jo delci v tem času prepotujejo:

$$s_p^2 = 6Dt \qquad (1).$$

D je **difuzijski koeficient**, ki je značilen za vsako snov (enota: m^2/s). Vrednost difuzijskega koeficienta dane snovi je med drugim odvisna od vrste topila, temperature raztopine in njene viskoznosti. Difuzijski koeficient neke snovi je ob danih pogojih (topilo, temperatura, viskoznost) konstanta.

Če obe strani enačbe (1) korenimo, dobimo:

$$s_p = \sqrt{(6D)} \cdot \sqrt{t} \qquad (2).$$

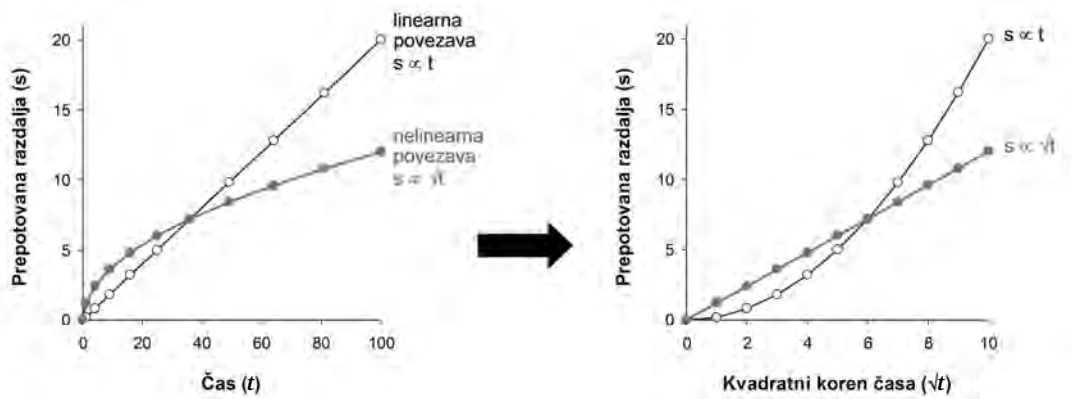
Zmnožek 6D je konstanta in tudi kvadratni koren te konstante, $\sqrt{(6D)}$, je konstanta, ki jo lahko označimo s črko k. Ker neodvisno spremenljivko čas t rišemo na os x, odvisno spremenljivko s_p pa na os y, lahko enačbo (2) izrazimo kot splošno matematično funkcijo:

$$y = k \cdot \sqrt{x} \qquad (3).$$

Torej pot, ki jo prepotujejo delci, ni premo (linearno) sorazmerna pretečenemu času ($s_p \propto t$), temveč je pot sorazmerna kvadratnemu korenu časa:

$$s_p \propto \sqrt{t} \qquad (4).$$

To smo ugotovili tudi pri meritvah, saj krivulja na grafu, ki opisuje povezavo med časom (na osi x) in prepotovano razdaljo (na osi y), ni ravna črta (premica; $y = kx$), temveč je ukrivljena krivulja, po obliki podobna funkciji kvadratni koren: $y = k\sqrt{x}$ (slika 6 – levi graf). Ko pa smo na os x namesto časa t nanesli kvadratni koren časa $\sqrt{t}$, je bila krivulja na grafu dokaj ravna črta (slika 6 – desni graf) – torej je prepotovana razdalja sorazmerna kvadratnemu korenu časa $\sqrt{t}$.



t	$\sqrt{t}$	$s \propto t$ $s = 0{,}2 \cdot t$	$s \propto \sqrt{t}$ $s = 1{,}2 \cdot \sqrt{t}$
0	0	0,0	0
1	1	0,2	1
4	2	0,8	2
9	3	1,8	4
16	4	3,2	5
25	5	5,0	6
36	6	7,2	7
49	7	9,8	8
64	8	12,8	10
81	9	16,2	11
100	10	20,0	12

Slika 6: Primerjava linearne in nelinearne povezave med časom in prepotovano razdaljo. Za potovanje snovi z difuzijo velja nelinearna povezava $s \propto \sqrt{t}$. V preglednici so navedeni konkretni podatki, ki so prikazani na grafih. Enote za čas (t) in prepotovano razdaljo (s) so relativne.

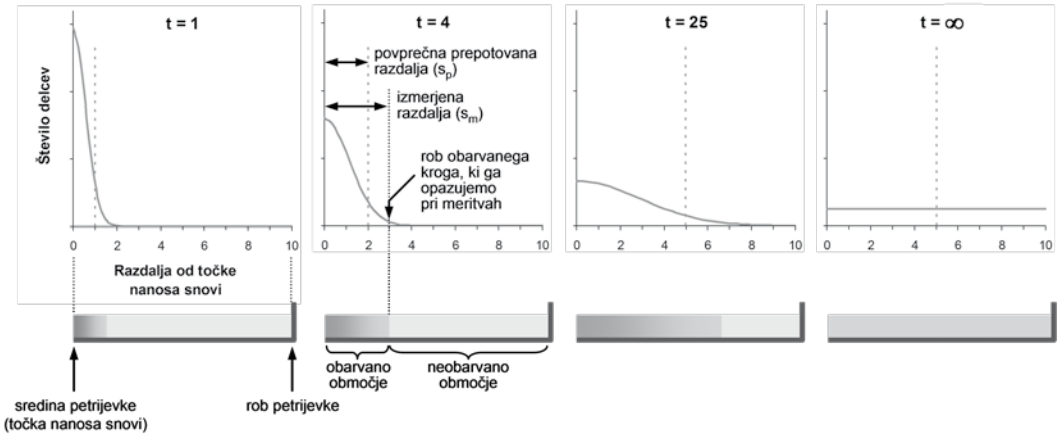
Difuzijski koeficient D opisuje difuzijske lastnosti delcev neke snovi v danih pogojih. Na temelju rezultatov meritev, ki smo jih opravili, lahko ocenimo vrednost difuzijskega koeficienta D za hidroksidne ione. Iz enačbe (1) ugotovimo, da difuzijski koeficient D izračunamo tako:

$$D = s_p^2 / (6t) \qquad (5).$$

Za izračun vrednosti D potrebujemo torej *povprečno* razdaljo, ki so jo prepotovali hidroksidni ioni po agarju v času *t*. Agar je želatinasta snov, ki jo pridobivamo iz polisaharidov v celičnih stenah rdečih alg. Agar primešamo vroči vodi; ob ohlajanju se agar zamreži in postane želatinast. Med »nitmi« polisaharidov v agarju je veliko vode, zato lahko gibanje hidroksidnih ionov po agarju obravnavamo kot približek za gibanje teh delcev v vodi brez agarja. Pri tem je na splošno potovanje delcev z difuzijo v agarju nekoliko počasnejše kot v vodi.

Princip meritev, ki smo jih opravili, je prikazan na sliki 7. V agarju je pH-indikator fenolftalein, ki je v nevtralnem okolju brezbarven, v bazičnem okolju, pri pH-vrednosti nad 8,2, pa vijolične barve. Med poskusom opazimo spremembo barve agarja iz prozorne v vijolično barvo na mestih, na katerih koncentracija hidroksidnih ionov v raztopini dovolj naraste (kjer je pH višji od 8,2). Postopno se zaradi gibanja hidroksidnih ionov z difuzijo povečuje njihova koncentracija v območjih, ki so bolj oddaljena od točke nanosa snovi (luknjice v agarju; glej sliko 7).

Med poskusom opazujemo rob obarvanega kroga – torej dejansko merimo skupno prepotovano razdaljo tistih hidroksidnih ionov, ki so ob času vsake meritve prepotovali *najdlje* od sredine petrijevke; to izmerjeno razdaljo ob času t označimo kot s_m. Za izračun vrednosti D pa potrebujemo *povprečno* razdaljo s_p, ki so jo prepotovali ioni.



Slika 7: Porazdelitev delcev v agarju v petrijevki ob različnih zaporednih časih po začetku poskusa. Enote za čas (*t*) in za razdaljo so relativne. Pod grafom je prikazano potovanje nanesenih delcev snovi (npr. hidroksidnih ionov) po agarju od sredine petrijevke (točke nanosa snovi) proti robu petrijevke. Ob nanosu snovi ($t = 0$ – na sliki ni prikazan) so vsi delci nanesene snovi v točki nanosa. Ob časih $t = 1$, 4 in 25 obstaja v agarju koncentracijski gradient – koncentracija nanesenih delcev je večja v sredini kot ob robu petrijevke. Po zelo dolgem času ($t = \infty$) sistem doseže dinamično ravnovesje – delci so enakomerno razporejeni po agarju, njihova koncentracija je povsod enaka (ni koncentracijskega gradienta). Opomba: Pri opisovanju gibanja delcev ne uporabljamo navadnega povprečja prepotovanih razdalj, temveč povprečje s_p izračunamo kot kvadratni koren povprečja kvadratov razdalj. Na grafih je s črtkano črto prikazano to posebno povprečje.

Na sliki 7 je prikazana primerjava med razdaljo, ki smo jo pri poskusu merili (do roba obarvanega kroga), in povprečno razdaljo, ki jo ob danem času prepotujejo delci. Pri opisovanju gibanja delcev ne uporabljamo navadnega povprečja prepotovanih razdalj, temveč povprečje s_p izračunamo kot kvadratni koren povprečja kvadratov razdalj. Iz slike 7 lahko ugotovimo, da izmerjena razdalja s_m približno ustreza povprečni razdalji s_p, ki jo potrebujemo za izračun difuzijskega koeficienta D. Torej lahko približno vrednost difuzijskega koeficienta D za hidroksidne ione izračunamo:

$$D = s_m^2 / (6t) \qquad (6).$$

Hitrost potovanja različnih delcev z difuzijo

Različno veliki delci (molekule, ioni) z difuzijo potujejo različno hitro. V preglednici 4 so prikazani podatki za 13 različnih delcev, ki jih najdemo v celicah in ki se zelo razlikujejo po velikosti. Obravnavani delci so glede na njihovo velikost uvrščeni v štiri skupine. V prvi so zelo majhne anorganske molekule in ioni, v drugi majhne organske molekule (sladkorji, aminokisline), v tretji velike organske molekule (beljakovine), v četrti pa je ribosom kot primer zelo velikega delca v celici, zgrajenega iz več beljakovin in več molekul RNA. Za vsak obravnavani delec je naveden tudi difuzijski koeficient.

Za boljšo predstavo o velikosti in obliki obravnavanih molekul si oglej sliko 8. V učbeniku si oglej strukturne formule obravnavanih sladkorjev, aminokislin in glicerola.

V preglednici 4 je naveden tudi čas, ki ga v povprečju posamezna vrsta delca potrebuje, da v vodi pri 20 °C z difuzijo prepotuje razdalji, ki ustrezata velikosti celic (10 µm in 100 µm), ter večji razdalji, ki ustrezata velikosti večceličnih organizmov (10 mm in 1 m). Oglej si prikazane podatke. Za lažjo predstavo o hitrosti potovanja delcev z difuzijo je povezava med časom in prepotovano razdaljo prikazana tudi na sliki 9.

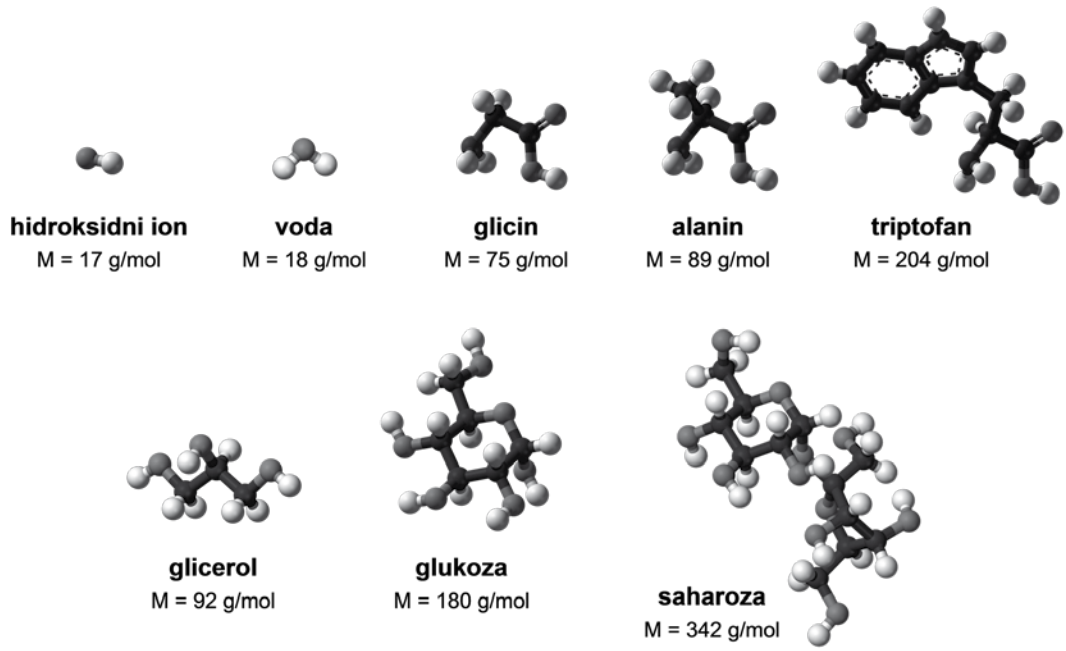
17. *Ob upoštevanju podatkov v preglednici 4 in grafov na sliki 9 dopolni spodnje posplošene trditve.*

Snovi, ki imajo večji difuzijski koeficient, z difuzijo potujejo _____ kot snovi z manjšim difuzijskim koeficientom.	hitreje/počasneje/ enako hitro
Pri danih pogojih večji delci z difuzijo potujejo _____ kot manjši delci.	hitreje/počasneje/ enako hitro
Prenos delcev snovi z difuzijo poteka dokaj _____ na zelo majhne razdalje, na večje razdalje pa prenos delcev snovi z difuzijo poteka zelo _____ .	počasi/hitro

18. *V preglednici 4 so delci razvrščeni v štiri skupine. Oglej si grafe na sliki 9 in ugotovi, kaj lahko ob primerjavi krivulj na grafih ugotovimo za hitrost potovanja delcev iz štirih skupin z difuzijo. Ob enem od grafov na sliki 9 označi za vsak delec, v katero od štirih skupin spada. Opiši svoje ugotovitve.*

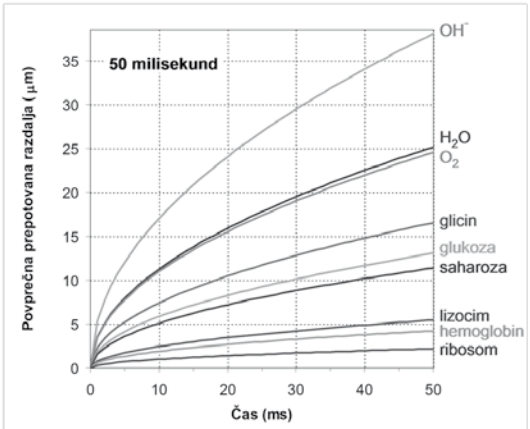
Preglednica 4: Difuzijske lastnosti različnih delcev v vodi pri 20°C. Stolpci Čas za pot ... prikazujejo čas, v katerem molekule v povprečju prepotujejo navedeno razdaljo. Delci so v preglednici razvrščeni po velikosti – po naraščajoči molski masi.

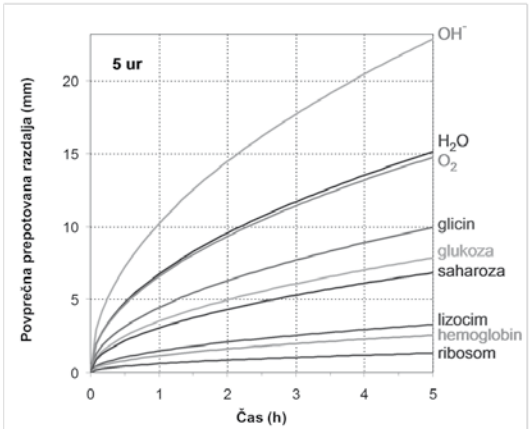
				Velikost celic		**Velikost večceličnih organizmov**	
Vrsta molekule ali strukture	**Molekula ali struktura**	**Molska masa (g/mol)**	**Difuzijski koeficient D pri 20°C (10^{-9} m^2/s)**	**Čas za pot 10 µm**	**Čas za pot 100 µm**	**Čas za pot 10 mm**	**Čas za pot 1 m**
majhna anorganska	OH^-	17	4,8	0,003 s	0,3 s	1,0 h	1,1 let
majhna anorganska	voda H_2O	18	2,1	0,008 s	0,8 s	2,2 h	2,5 let
majhna anorganska	kisik O_2	32	2,0	0,008 s	0,8 s	2,3 h	2,6 let
majhna anorganska	ogljikov dioksid CO_2	44	1,6	0,011 s	1,1 s	2,9 h	3,3 let
majhna organska (aminokislina)	glicin	75	0,91	0,018 s	1,8 s	5,1 h	5,8 let
majhna organska (aminokislina)	alanin	89	0,79	0,021 s	2,1 s	5,9 h	6,7 let
majhna organska (alkohol)	glicerol	92	0,77	0,022 s	2,2 s	6,0 h	6,8 let
majhna organska (sladkor)	glukoza	180	0,57	0,029 s	2,9 s	8,1 h	9,3 let
majhna organska (aminokislina)	triptofan	204	0,53	0,031 s	3,1 s	8,7 h	9,9 let
majhna organska (sladkor)	saharoza	342	0,43	0,039 s	3,9 s	10,7 h	12,2 let
velika organska (beljakovina)	**lizocim** (129 aminokislin)	14 320	0,10	0,17 s	17 s	46 h = 1,9 dni	53 let
velika organska (beljakovina)	**hemoglobin** (574 aminokislin)	68 000	0,06	0,28 s	28 s	77 h = 3,2 dni	88 let
kompleks več beljakovin in več molekul RNA	bakterijski ribosom	2 700 000	0,02	1,03 s	103 s = 1,7 min	286 h = 11,9 dni	327 let

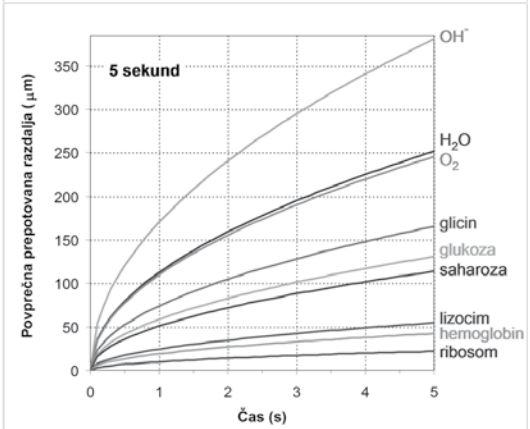


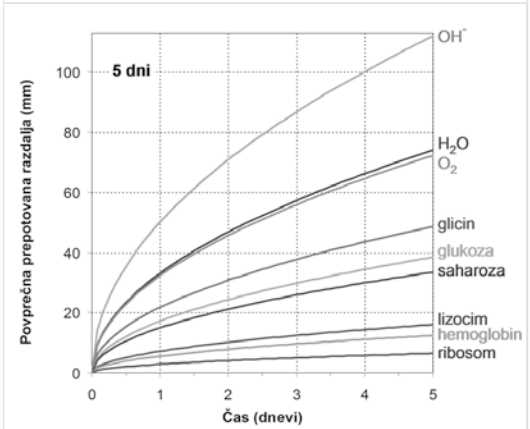
Slika 8: Tridimenzionalna zgradba nekaterih molekul, navedenih v preglednici 4 (Vir slik: Wikimedia Commons).

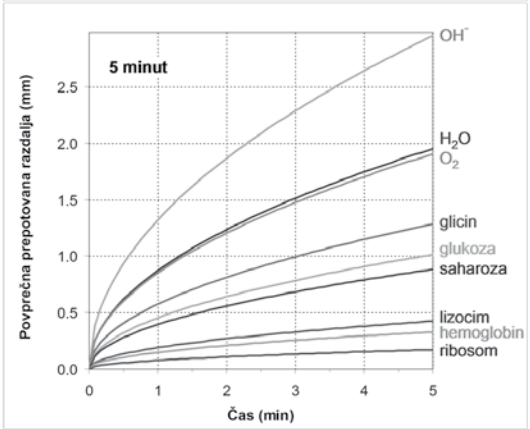
Slika 9: Hitrost potovanja nekaterih delcev z difuzijo pri temperaturi 20°C v vodi. Grafi prikazujejo povprečno prepotovano razdaljo s_p v različnih časovnih obdobjih – glej napise na grafih ter enote na oseh x in y.

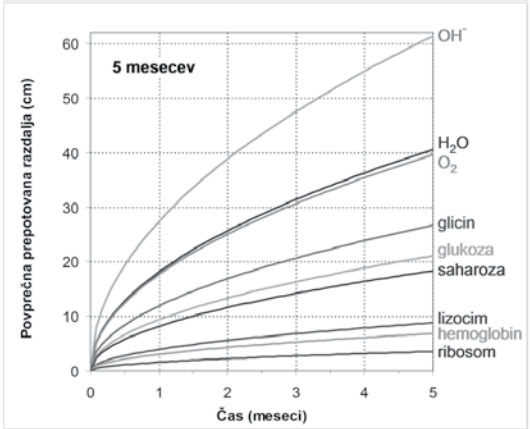

50 milisekund
Povprečna prepotovana razdalja (μm)
Čas (ms)
OH⁻
H2O
O2
glicin
glukoza
saharoza
lizocim
hemoglobin
ribosom

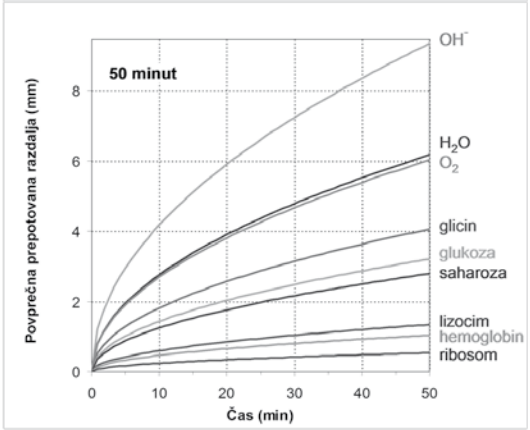

5 ur
Povprečna prepotovana razdalja (mm)
Čas (h)
OH⁻
H2O
O2
glicin
glukoza
saharoza
lizocim
hemoglobin
ribosom

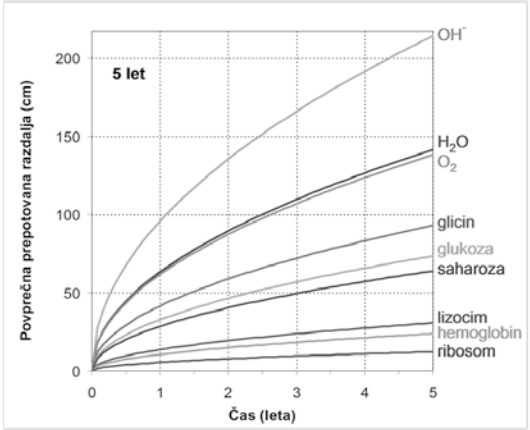

5 sekund
Povprečna prepotovana razdalja (μm)
Čas (s)
OH⁻
H2O
O2
glicin
glukoza
saharoza
lizocim
hemoglobin
ribosom


5 dni
Povprečna prepotovana razdalja (mm)
Čas (dnevi)
OH⁻
H2O
O2
glicin
glukoza
saharoza
lizocim
hemoglobin
ribosom


5 minut
Povprečna prepotovana razdalja (mm)
Čas (min)
OH⁻
H2O
O2
glicin
glukoza
saharoza
lizocim
hemoglobin
ribosom


5 mesecev
Povprečna prepotovana razdalja (cm)
Čas (meseci)
OH⁻
H2O
O2
glicin
glukoza
saharoza
lizocim
hemoglobin
ribosom


50 minut
Povprečna prepotovana razdalja (mm)
Čas (min)
OH⁻
H2O
O2
glicin
glukoza
saharoza
lizocim
hemoglobin
ribosom

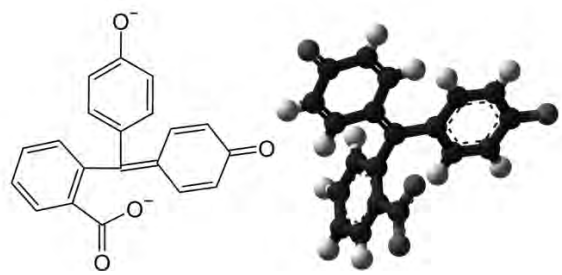

5 let
Povprečna prepotovana razdalja (cm)
Čas (leta)
OH⁻
H2O
O2
glicin
glukoza
saharoza
lizocim
hemoglobin
ribosom

19. *Na splošno velja, da so celice zelo majhne. Večina človeških celic je velikih približno 10 µm – v 1 milimeter bi lahko zaporedno, »v kolono«, postavili 100 takšnih celic. Rastlinske celice so nekoliko večje od živalskih – mnoge so dolge okrog 100 µm, kar približno ustreza debelini človeškega lasu. Ob upoštevanju dosedanjih ugotovitev o delovanju difuzije razloži, zakaj so celice tako majhne. V odgovoru uporabi podatke iz preglednice 4 in slike 9.*

(Namig: Razmisli o tem, da je treba vse dele celice neprestano oskrbovati s potrebnimi snovmi in da se morajo strupene odpadne snovi, ki v celicah nastajajo, v doglednem času, preden njihova koncentracija v celici močno naraste, odstraniti iz celice.)

20. *Izvedba poskusa v šoli je bila precej poenostavljena. Navedi, kateri dejavniki so lahko prispevali k nenatančnosti rezultatov izvedenega poskusa (možni viri eksperimentalne napake) oziroma k razhajanju med vrednostjo za difuzijski koeficient D hidroksilnih ionov, ki so jo izmerili znanstveniki (glej preglednico 4) in vrednostjo D, ki smo jo ocenili pri poskusu.*

21. *Molska masa fenolftaleina je 318 g/mol, spodaj pa je prikazana njegova zgradba v bazičnem okolju.*



Slika 10: Ravninska in prostorska oblika molekule fenolftaleina (Vir slik: Wikimedia Commons).

Glede na njegove kemijske lastnosti razvrsti fenolftalein v eno od štirih skupin delcev, ki so obravnavane v preglednici 4. Obkroži črko skupine, v katero si razvrstil fenolftalein.

Uvrstitev fenolftaleina v skupino glede na kemijske lastnosti (zgradba, molska masa):

a) zelo majhne anorganske molekule
b) majhne organske molekule
c) velike organske molekule
d) zelo veliki delci (npr. ribosom)

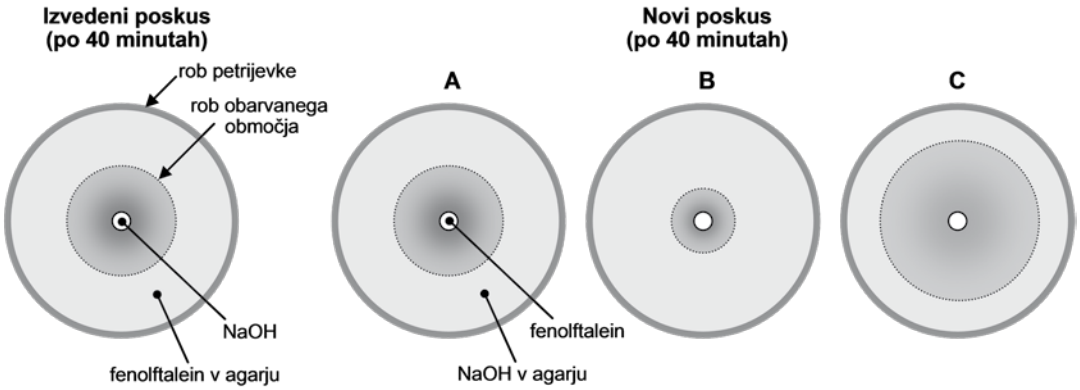
22. *Pojasni, zakaj si fenolftalein uvrstil v izbrano skupino.*

23. *Ob upoštevanju lastnosti fenolftaleina in dejavnikov, ki vplivajo na hitrost difuzije različnih delcev, lahko ocenimo, kakšen difuzijski koeficient pričakujemo za določeno snov. Primerjaj molsko maso, velikost in obliko molekul fenolftaleina z drugimi molekulami, ki so obravnavane v preglednici 4 in na sliki 9. Na temelju podatkov v preglednici 4 oceni, kakšna je pričakovana vrednost difuzijskega koeficienta za fenolftalein. Razloži svojo oceno.*

Difuzijski koeficient D za fenolftalein v vodi pri 20°C je verjetno približno _____ m^2/s.

Pri izvedenem poskusu smo imeli v petrijevki agar s fenolftaleinom, v luknjico pa smo nanesli raztopino NaOH (glej sliko 11 – levo). Predstavljaj si, da izvedemo nov poskus, pri katerem v agar primešamo NaOH, v luknjico pa nanesemo raztopino fenolftaleina (slike A, B in C).

24. *Slika 11 prikazuje izid izvedenega poskusa 40 minut po nanosu NaOH v luknjico. Slike A, B in C pa prikazujejo tri možne izide novega poskusa 40 minut po nanosu fenolftaleina v luknjico. Ugotovi, katera od slik A, B ali C najbolje prikazuje pričakovani izid novega poskusa 40 minut po nanosu fenolftaleina v luknjico. Upoštevaj, da ima fenolftalein molsko maso 318 g/mol in difuzijski koeficient v vodi pri 20°C $D = 0{,}44 \cdot 10^{-9}$ m^2/s. Pri odgovoru uporabi tudi podatke v preglednici 4 in na sliki 9. Obkroži črko nad sliko s pričakovanim izidom poskusa in razloži, zakaj ta slika najbolje prikazuje pričakovani izid poskusa.*



Slika 11: Izid izvedenega poskusa 40 minut po nanosu NaOH v luknjico. Slike A, B in C pa prikazujejo tri možne izide novega poskusa 40 minut po nanosu fenolftaleina v luknjico.

25. Od celic do večceličnih organizmov

Ker so celice zelo majhne, lahko večcelični organizmi vsebujejo zelo veliko celic. Znanstveniki ocenjujejo, da je v telesu odraslega človeka približno 10^{14} celic. Spodaj najprej to število napiši kot enko, ki ji sledi ustrezno število ničel, nato pa ugotovi, koliko milijard celic je to.

V mojem telesu je približno _____ celic.

V mojem telesu je približno _____ milijard celic.

Razišči, koliko zvezd je v naši galaksiji Rimski cesti, in dopolni spodnji trditvi.

V naši galaksiji Rimski cesti je približno _____ zvezd.

V mojem telesu je približno _____-krat _____ celic kot je zvezd v naši galaksiji. | več / manj

26. *Vse celice v človeškem telesu potrebujejo stalno oskrbo s kisikom. Ta sodeluje v procesu celičnega dihanja, s katerim celice neprestano pridobivajo energijo, potrebno za poganjanje življenjskih procesov v celici (celičnega dela). Molekule kisika v človeško telo vstopajo v pljučih. S pomočjo grafov na sliki 9 ugotovi, koliko časa bi molekule kisika, ki vstopijo v tvoje telo v pljučih, v povprečju potrebovale, da bi pripotovale do celic v palcu na nogi, če bi molekule kisika potovale zgolj z difuzijo.*

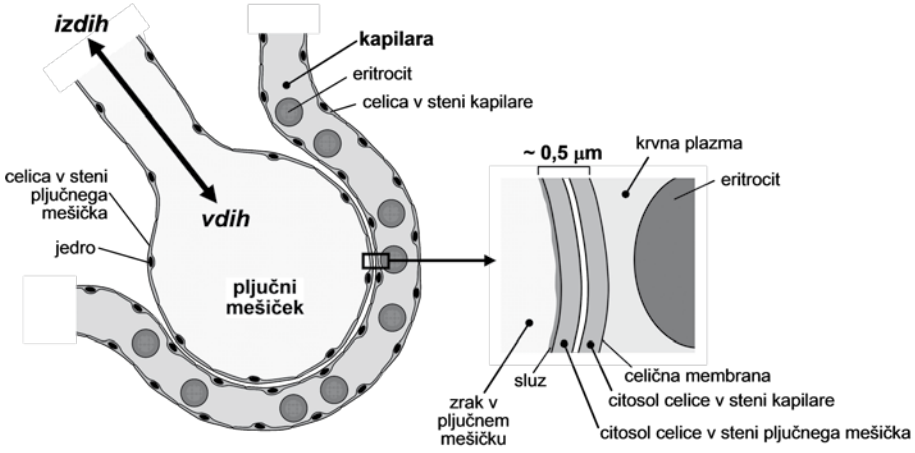
Z difuzijo bi molekule kisika v povprečju potovale od mojih pljuč do palca na nogi približno _____ .

Hrana, ki jo človek poje, se v prebavilih razgradi na majhne organske molekule, ki morajo nato pripotovati do vseh telesnih celic, saj so zanje vir snovi in energije. Podobno kot prej za molekule kisika ugotovi, koliko časa bi z difuzijo potovale molekule glukoze, ki se med prebavo v črevesju sproščajo iz hrane, od črevesja do možganov.

Z difuzijo bi molekule glukoze v povprečju potovale od mojega črevesja do možganov približno _____ .

27. *Medtem ko so celice zelo majhne, pa so večcelični organizmi veliki od nekaj milimetrov pa do več metrov ali celo do več deset metrov (npr. drevesa, veliki kiti, veliki dinozavri). Podobno kot morajo biti znotraj celice vsi deli celice ves čas ustrezno oskrbovani s potrebnimi snovmi, morajo biti tudi znotraj večceličnega organizma vse celice ves čas oskrbovane s potrebnimi snovmi. Razloži, ali je pri večjih večceličnih organizmih difuzija dovolj učinkovit način za prenos snovi do vseh delov telesa in do vseh celic. V odgovoru uporabi podatke iz preglednice 4 in slike 9. Razloži, na kakšen način je pri večjih večceličnih organizmih rešen problem neprestane in zadostne oskrbe vseh celic s potrebnimi snovmi.*

28. *Številne celice v človeškem telesu imajo približno kroglasto (izodiametrično, čokato, ne pretirano podaljšano) obliko s premerom približno 10 µm. V nekaterih tkivih in organih pa imajo celice »nenavadne« oblike, ki so povezane z delovanjem tkiva ali organa kot celote. Enega od nenavadnih primerov oblike celic najdemo v človeških pljučih, v katerih so poti za zrak močno razvejane in se končujejo v pljučnih mešičkih. Na sliki spodaj je prikazan prerez pljučnega mešička. Tesno okoli vsakega pljučnega mešička je napeljana mreža razvejanih kapilar – zelo tankih krvnih žil.*



Slika 12: Slika prikazuje prerez pljučnega mešička in kapilare, ki ga obdaja.

Oglejmo si lastnosti celic v pljučnem mešičku in v njegovi neposredni okolici:

Steno pljučnega mešička predstavljajo izjemno sploščene celice. Medtem ko je v običajnih človeških celicah jedro približno kroglasto, je jedro celic v pljučnih mešičkih zelo sploščeno (kot bombon smartie ali m&m). Toda celo to sploščeno jedro je v primerjavi z debelino cele celice zelo debelo. Oblika celic v steni pljučnih mešičkov je namreč podobna jajcu na oko, pri čemer je jedro izboklina – rumenjak, preostali del celice pa ploščati beljak. To miniaturno jajce na oko je seveda obdano s celično membrano.

Tesno okoli pljučnega mešička so ovite kapilare. Steno kapilare predstavlja en sloj zelo sploščenih celic.

Kisik potuje z difuzijo iz notranjosti pljučnega mešička pa vse do molekul hemoglobina v eritrocitih (rdečih krvnih celicah), na katere se veže. Stena pljučnega mešička je stalno vlažna – tu molekule kisika vstopijo iz plinastega zraka v vodno okolje. Molekula kisika nato z difuzijo potuje skozi celično membrano (skozi fosfolipidni dvosloj) celice v steni pljučnega mešička, skozi citosol te celice, na drugi strani spet potuje skozi celično membrano, skozi zelo ozek prostor med celicami v steni pljučnega mešička in edinim slojem celic v steni kapilare, nato skozi celično membrano celice v steni kapilare, prečka citosol te celice, potuje skozi celično membrano na drugi strani celice v steni kapilare in vstopi v kri. Nato potuje po krvi do eritrocita (rdeče krvne celice), prečka membrano te celice in se veže na hemoglobin v citosolu eritrocita.

Skupna razdalja od zraka v pljučnem mešičku do krvi znaša manj kot 1 μm (glej sliko). Pri tem molekula kisika prečka dve človeški celici!

Razloži, kako zgradba pljučnega mešička omogoča učinkovit in dovolj hiter prenos molekul kisika iz zraka v mešičku do rdečih krvnih celic (eritrocitov) v krvi, v katerih se kisik veže na hemoglobin. Upoštevaj, da lahko molekule kisika dokaj hitro prečkajo fosfolipidni dvosloj celične membrane z difuzijo (ne potujejo skozi membrano s pomočjo prenosnih membranskih beljakovin).

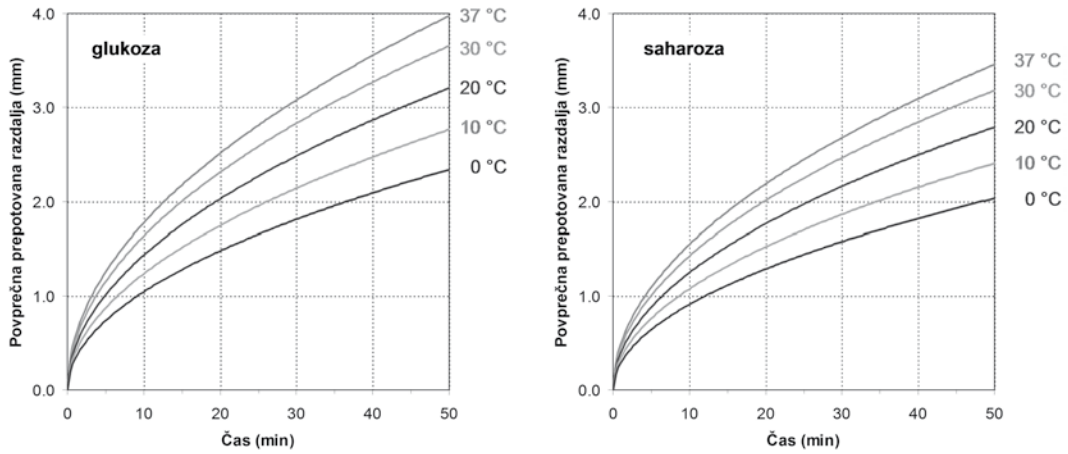
29. *Skozi odtrgan zelen list rastline poglej proti svetlobi (npr. proti svetlemu nebu). Za opazovanje je bolj primeren tanek list. V listu opaziš močno razvejane žile. Po posebnih cevkah v žilah v list doteka voda z raztopljenimi mineralnimi snovmi (iz korenin), po drugih cevkah v žilah pa iz lista v druge dele rastline odteka v vodi raztopljen sladkor (saharoza), ki je nastal v celicah lista med fotosintezo. Če si list ogledamo pod mikroskopom, ugotovimo, da so žile tako močno razvejane, da so med sosednjimi najdrobnejšimi žilami zelo majhni »otočki«, ki vsebujejo le malo celic. Razloži, na kakšen način opisana zgradba lista prispeva k učinkovitosti transporta snovi po rastlini.*

30. *Žabe in druge dvoživke sprejemajo kisik v telo skozi pljuča, pa tudi skozi kožo. Njihova koža je stalno vlažna, da se kisik iz zraka lahko raztopi v sluzi na površini kože. Koža je zelo tanka, v koži je gost preplet kapilar. Razloži, kako takšna zgradba telesa žabi omogoča, da učinkovito sprejema kisik iz zraka skozi kožo.*

Zgoraj smo obravnavali nekaj primerov povezav med zgradbo in delovanjem organizmov, ki omogočajo prenos snovi po telesu. Na zelo kratke razdalje se lahko snovi prenašajo z difuzijo, ki temelji na toplotnem gibanju delcev. Na dolge razdalje pa je prenos snovi z difuzijo prepočasen, zato se na dolge razdalje snovi prenašajo z masnim tokom snovi, ki ga poganja tlačna razlika (npr. masni tok snovi po cevkah transportnega sistema, v katerem ustvarja tlačno gonilno razliko črpalka – srce). Zgradba organizmov, ki omogoča njihovo učinkovito delovanje, je rezultat evolucije. Možne evolucijske rešitve za učinkovito delovanje organizmov so seveda omejene s fizikalnimi zakoni, saj ti enako veljajo za neživo in za živo naravo. **Z evolucijo v okviru omejitev fizikalnih zakonov postopno, skozi številne generacije, nastajajo rešitve problemov, ki omogočajo učinkovito delovanje organizmov.**

Vpliv temperature na hitrost potovanja molekul z difuzijo

Na hitrost potovanja delcev z difuzijo vpliva tudi temperatura. Na sliki 13 je prikazan vpliv temperature na potovanje dveh sladkorjev, monosaharida glukoze in disaharida saharoze.



Slika 13: Vpliv temperature na hitrost potovanja glukoze (levo) in saharoze (desno) z difuzijo v vodni raztopini. Na obeh grafih sta merili na oseh *x* oziroma na oseh *y* enaki.

31. *Ob upoštevanju grafov na sliki 13 dopolni spodnji trditvi.*

Pri višji temperaturi delci v povprečju v določenem času prepotujejo _____ razdaljo kot pri nižji temperaturi.	manjšo/večjo/enako
Pri višji temperaturi se delci gibajo _____ kot pri nižji temperaturi.	hitreje/počasneje/ enako hitro

32. *Če ste izvedli poskus z agarjem v petrijevkah pri različnih temperaturah, primerjaj grafa na sliki 13 z grafom ali grafi, ki prikazujejo rezultate izvedenega poskusa – vpliv temperature na hitrost potovanja hidroksidnih ionov z difuzijo. Ali so rezultati poskusa v skladu z zaključki o vplivu temperature na hitrost difuzije, do katerih lahko pridemo ob ogledu grafov na sliki 9? Komentiraj.*

33. Doslej smo si ogledali razdalje, ki jih delci v določenem času prepotujejo z difuzijo. Zaradi neprestanega medsebojnega trkanja pa se delci tudi zelo hitro vrtijo. Neprestani trki med molekulami, pri čemer molekule trkajo med seboj z različnimi deli, so temelj za potekanje kemijskih reakcij (npr. izmenjava atomov med molekulami). Da kemijska reakcija poteče, morajo molekule trčiti med seboj z dovolj veliko hitrostjo. Neprestani trki med molekulami so pomembni tudi za encimske reakcije v celici. Pri nekaterih od številnih trkov med encimom in njegovim substratom trči substrat v aktivno mesto encima v takšni orientaciji, da se substrat lahko »ugnezdi« v aktivno mesto in encimska reakcija lahko poteka.

Na temelju ugotovitev o hitrosti gibanja delcev pri različnih temperaturah razloži, ali lahko na splošno pričakujemo, da encimske reakcije v celicah potekajo hitreje pri 20 °C ali pri 30 °C.

Odgovori na vprašanja in rešitve nalog

Zakaj so celice majhne?

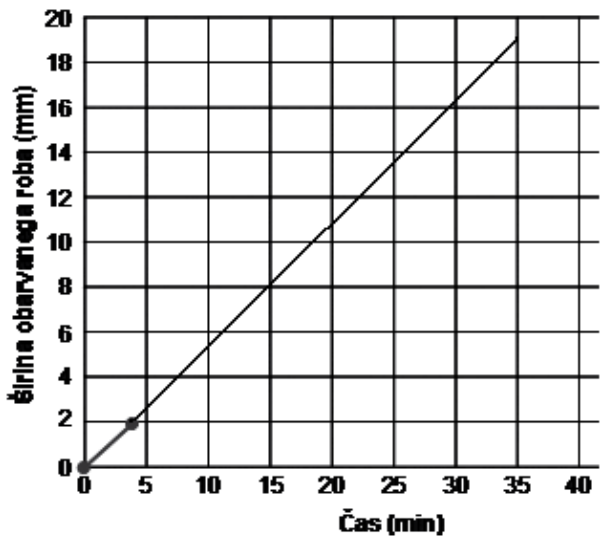
1. Zaradi optimalnega razmerja med volumnom in površino. Če bi bile celice večje in bi ostale konkavne, nerazvejane, njihova površina ne bi bila dovolj velika, da bi skoznjo celica dobila dovolj snovi v dovolj kratkem času. Večje celice zaradi pomanjkanja snovi ne bi mogle delovati.

Dejansko gre za to, da se lahko celica povečuje in ostaja konkavna (kroglasta, kvadrasta ipd.) le do neke mere. Razmerje med površino in volumnom (P : V) lahko pri velikih celicah ostaja ugodno na račun konveksne razrasti (primer: nevroni, ki lahko merijo meter v dolžino in so zato velike celice, vendar imajo ugodno razmerje med površino in volumnom. Zato so večje celice vedno konveksne, razvejane.

Zaradi difuzijskih razdalj, lažjega oskrbovanja. Če bi bile celice velike (3 x 3 x 3 cm) bi trajalo celo večnost, da bi snovi, ki so vstopile v celico, prišle do sredine celice.

2. **Napoved rezultatov poskusa**

Obarvan rob bo širši, verjetno med 10 in 20 mm, kar sklepam po tem, da če snov prepotuje v določenem času neko pot, bo v dvakrat daljšem času prepotovala dvakrat daljšo pot, v trikrat daljšem času, bo prepotovala trikrat daljšo pot ...



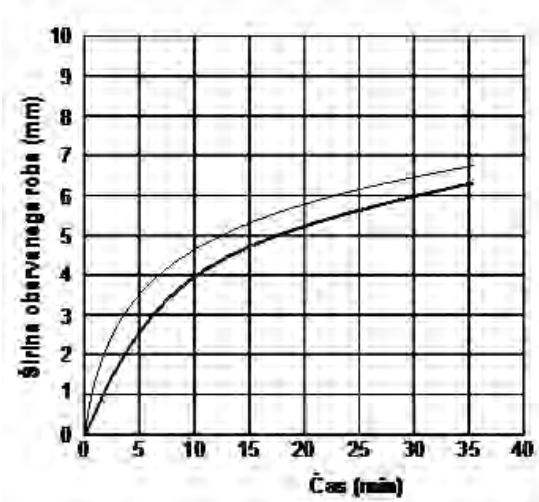
Graf 1: Hitrost širjenja obarvanega kolobarja (napoved rezultatov poskusa)

3. Rezultati poskusa

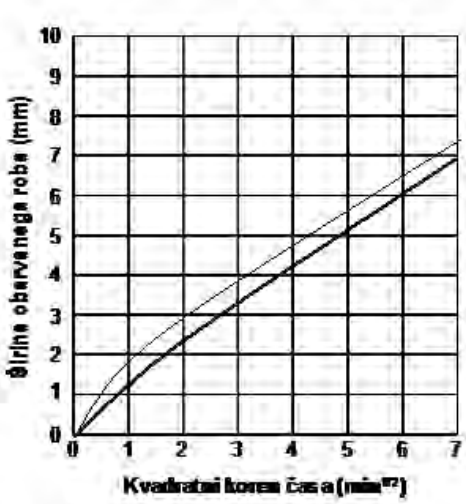
Temperatura 22,5°C

Preglednica 1: Širina obarvanega roba v odvisnosti od kvadratnega korena časa in povprečje meritev vseh dijakov

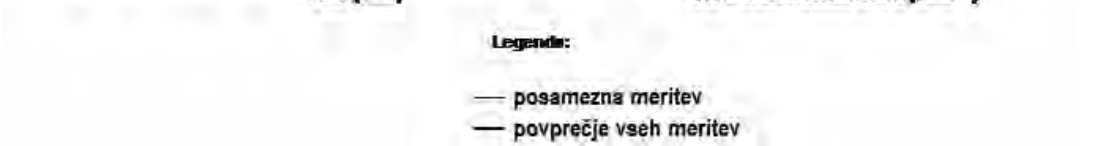
		Širina obarvanega roba (mm)	
Čas (min)	**Kvadratni koren časa ($min^{1/2}$)**	**Moja meritev**	**Povprečje meritev vseh dijakov**
0	**0**	0	0
1	**1**	2	1,3
4	**2**	3	2,5
9	**3**	4	3,5
16	**4**	5	4,6
25	**5**	6	5,5
36	**6**	6,8	6,2
	Število ponovitev poskusa		16

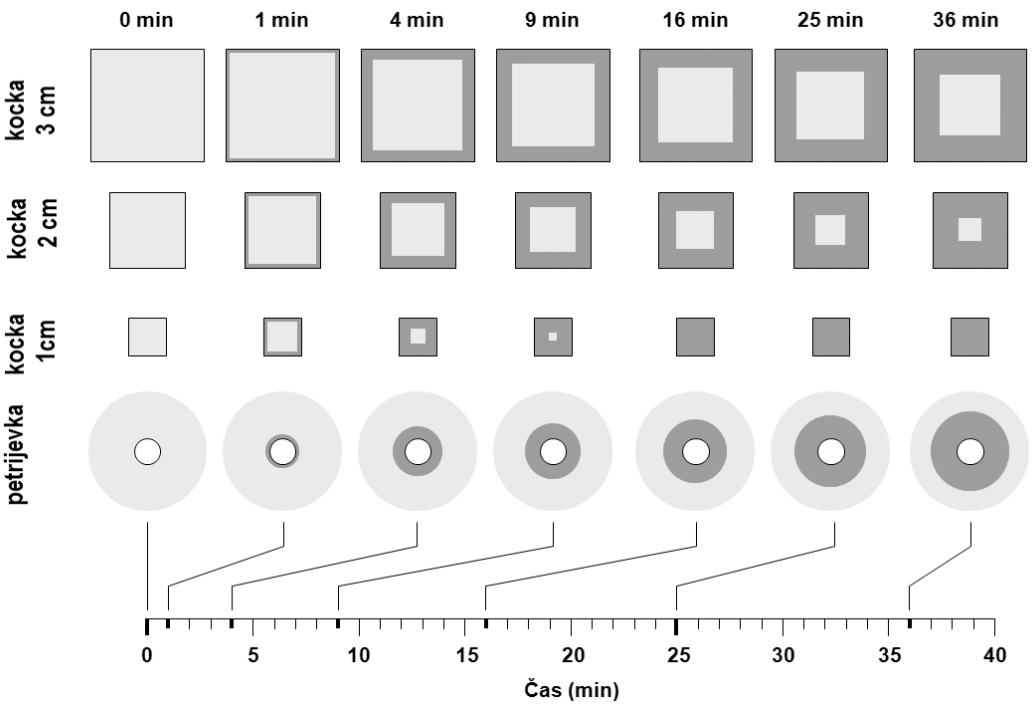


Graf 2: Širina obarvanega roba v odvisnosti od časa



Graf 3: Širina obarvanega roba v odvisnosti od kvadratnega korena časa





Slika 3: Shema, ki prikazuje povezavo med hitrostjo potovanja hidroksidnih ionov po agarju v petrijevki in njihovo potovanje v notranjost kock iz agarja različnih velikosti.

5. Kocka s stranico a = 1 cm

Prostornina cele kocke $V = a^3 = 1$ cm³

Pazi! Enote so centimetri (cm)!

T = 22,1 °C

Preglednica 2: Širina obarvanega roba in delež obarvane prostornine v odvisnosti od časa za kocko a = 1 cm

Čas (min)	**Širina obarvanega roba s (cm)**	**Stranica neobarvane kocke $a_n = a - 2s$ (cm)**	**Prostornina neobarvane kocke $V_n = a_n^3$ (cm³)**	**Prostornina obarvanega roba $V_o = V - V_n$ (cm³)**	**Delež obarvane prostornine $d = V_o/V$ x 100 (%)**
0	0	0	0	0	0
1	0,15	0,70	0,34	0,66	66
4	0,25	0,50	0,13	0,87	87
9	0,30	0,40	0,06	0,94	94
16	0,45	0,10	0	0	100
25	0,55	0	0	0	100
36	0,60	0	0	0	100

Kocka s stranico a = 2 cm

Prostornina cele kocke $V = a^3 = 8$ cm^3

Pazi! Enote so centimetri (cm)!

T = 22,1 °C

Preglednica 2: Širina obarvanega roba in delež obarvane prostornine v odvisnosti od časa za kocko a = 2 cm

Čas (min)	Širina obarvanega roba s (cm)	Stranica neobarvane kocke $a_n = a - 2s$ (cm)	Prostornina neobarvane kocke $V_n = a_n^3$ (cm^3)	Prostornina obarvanega roba $V_o = V - V_n$ (cm^3)	Delež obarvane prostornine $d = V_o/V$ x 100 (%)
0	0	0	0	0	0
1	0,15	1,70	4,91	3,09	38
4	0,25	1,50	3,37	4,62	58
9	0,30	1,40	2,74	5,26	65
16	0,45	1,10	1,33	6,67	83
25	0,55	0,90	0,73	7,27	91
36	0,60	0,80	0,51	7,49	93

Kocka s stranico a = 3 cm

Prostornina cele kocke $V = a^3 = 27$ cm^3

Pazi! Enote so centimetri (cm)!

T = 22,1 °C

Preglednica 2: Širina obarvanega roba in delež obarvane prostornine v odvisnosti od časa za kocko a = 3 cm

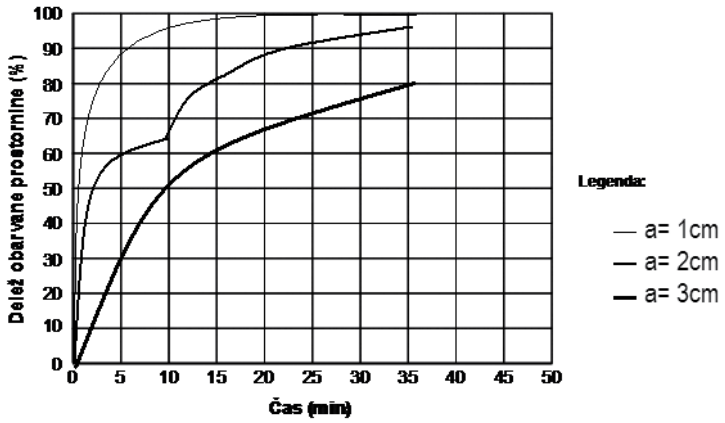
Čas (min)	Širina obarvanega roba s (cm)	Stranica neobarvane kocke $a_n = a - 2s$ (cm)	Prostornina neobarvane kocke $V_n = a_n^3$ (cm^3)	Prostornina obarvanega roba $V_o = V - V_n$ (cm^3)	Delež obarvane prostornine $d = V_o/V$ x 100 (%)
0	0	0	0	0	0
1	0,15	2,70	19,68	7,31	27
4	0,25	2,50	15,62	11,38	49
9	0,30	2,40	13,82	13,18	54
16	0,45	2,10	9,26	17,74	66
25	0,55	1,90	6,86	20,14	74
36	0,60	1,80	5,83	21,15	78

6. **Podatki za vse tri kocke**

T = 22,1 °C

Preglednica 3: Delež obarvane prostornine v odvisnosti od dolžine stranice kocke

	Delež obarvane prostornine (%)		
Čas (min)	**Kocka a = 1 cm**	**Kocka a = 2 cm**	**Kocka a = 3 cm**
0	0	0	0
1	66	38	27
4	87	58	49
9	94	65	54
16	100	83	66
25	100	91	74
36	100	93	78



Graf 4: Delež obarvane prostornine v odvisnosti od dolžine stranice kocke

7. Rezultati meritev kažejo, da s časom narašča tudi širina obarvanega kroga, vendar ne linearno. Krivulja na grafu, ki prikazuje odvisnost poti od časa, najprej strmo narašča, potem pa se umiri in vedno počasneje narašča.

8. Krivulja drugega grafa, ki prikazuje odvisnost poti od korena časa, pa je skoraj linearna. Odstopanja od ravne linije so verjetno posledica nenatančnih meritev in nepravilnih oblik posode oziroma agarja.

9. Rezultata nisem pravilno predvideval/-a, saj sem pričakoval/-a, da bo pot naraščala premo sorazmerno s časom.

10. Eden od grafov je precej odstopal, drugi grafi pa so si po obliki podobni, niso pa popolnoma enaki. Razlike, ki so nastale, so subjektivne, predvsem zaradi nenatančnega odčitavanja širine obarvanega roba.

11. Majhna kocka se je obarvala cela, preostali dve pa se med poskusom nista obarvali v celoti. Večja kot je kocka, večji je delež neobarvane prostornine kocke.

Hitrost prehajanja molekul je sicer v vseh treh primerih enaka, vendar je zaradi razlike v dolžini poti (velikosti kocke) razdalja med površino in sredino kocke večja. Za daljšo pot pa molekule potrebujejo več časa.

12. Oskrba celice je učinkovitejša, če je celica manjša, saj je difuzija kot oblika transporta učinkovita le na kratke razdalje.

13. Ocenjeni difuzijski koeficient D za hidroksidne ione pri 22,1 °C je 2 x 10^{-9} m^2/s.

t = 36 min

s_m = 6,2 mm

$$D = \frac{sp^2}{6t} = \frac{(0{,}0062\ m)^2}{6 \times 2160\ s} = 0{,}000000002\ m^2s^{-1} = 2 \times 10^{-9}\ m^2s^{-1}$$

14. Čeprav je doseženo dinamično ravnotežje, se delci ne prenehajo gibati, ampak se gibljejo v vseh smereh, povprečje vseh teh gibanj pa je enako 0. Delci bi se prenehali gibati pri -273,15 °C (0 K).

15. Ne, ko bi kapnili kapljico NaOH v vodo, bi s tem dovedli dodatno energijo (sila težnosti in sila pritiska na kapalko), ki bi pospešila gibanje delcev, povzročila bi mešanje tekočine. Poleg tega pa bi v vodi zelo težko opravili merjenje razdalj.

16. V tem letu je Albert Einstein objavil članek, v katerem je razložil, da svetloba kot elektromagnetno valovanje ne pojasni fotoefekta. To je sposobnost svetlobne energije, da iz snovi izbije elektrone. Zato je svetlobo definiral kot gibanje energijskih kvantov, t. i. fotonov, ki imajo lastnosti valovanja in lastnosti delcev.

Obenem z razlago Brownovega gibanja je iz enačb, ki jih je uporabil za opis tega gibanja, izračunal velikost molekul in atomov ter izpeljal Avogadrovo število.

Najodmevnejši pa je bil v tem letu njegov članek, v katerem je govoril o posebni teoriji relativnosti. Teorija govori o gibanju teles zunaj gravitacijskega polja. Glavni predpostavki te teorije sta, da je hitrost svetlobe v vakuumu konstantna, in druga, da imajo naravni zakoni v vseh inercialnih (nepospešenih) opazovanih sistemih enako obliko. V jeseni istega leta je Albert Einstein izpeljal tudi najslavnejšo formulo $E = mc^2$.

17. Snovi, ki imajo večji difuzijski koeficient, z difuzijo potujejo hitreje kot snovi z manjšim difuzijskim koeficientom. Pri danih pogojih večji delci z difuzijo potujejo počasneje kot manjši delci.

Prenos delcev snovi z difuzijo poteka dokaj hitro na zelo majhne razdalje, na večje razdalje pa prenos delcev snovi z difuzijo poteka zelo počasi.

18. Iz grafov je razvidno, da majhne anorganske molekule v istem času prepotujejo večje razdalje kot majhne organske molekule. Še počasnejše so velike organske molekule. Sklepamo lahko, da velikost molekule bistveno vpliva na hitrost njenega gibanja.

19. Celice so majhne, ker morajo biti ves čas oskrbovane s potrebnimi snovmi, da lahko opravljajo osnovne življenjske procese. Molekule, kot so voda, kisik in ogljikov dioksid, so majhne in imajo večje difuzijske koeficiente, kar pomeni, da lahko hitro potujejo v citoplazmi. Večje molekule, kot na primer glukoza, in aminokisline, imajo nižje difuzijske koeficiente in so glede na prej omenjene molekule počasnejše. Zato je nujno, da so celice majhne, ker to zagotavlja kratke difuzijske razdalje in posledično dovolj hiter transport tudi počasnejših snovi v vse dele celice.

Enako pomembno je, da se celica dovolj hitro znebi nerabnih snovi.

20. Gostota agarja, debelina agarja (v vseh petrijevkah ni bila debelina agarja popolnoma enaka), količina dodanega NaOH (bazo smo dodajali glede na velikost izrezanega diska – luknjice v agarju, ki pa pri vseh poskusih tudi ni bil popolnoma enak), nenatančne meritve širine obarvanega kolobarja, ki so občasno mejile bolj na oceno kot meritev, zlasti v primeru prvih treh meritev, in tudi nenatančna časovna meritev.

21. Fenolftalein uvrstimo med majhne organske molekule (odgovor b).

22. Fenolftalein uvrstimo med majhne organske molekule glede na njegovo molsko maso, ki smo jo primerjali z molskimi masami molekul predstavljenih v grafu (npr. saharozo). Poleg tega ima molekula podobno obliko in velikost.

23. Difuzijski koeficient D za fenolftalein v vodi pri 20°C je verjetno približno $0{,}45 \times 10^{-9}\ m^2s^{-1}$. Molekula fenolftaleina je podobna molekuli saharoze, predvsem po molski masi (fenolftalein 318 g/mol, saharoza 342 g/mol). Glede na to, da je molekula fenolftaleina bolj razvejana kot molekula glukoze, predvidevam, da je njen difuzijski koeficient okrog $0{,}45 \times 10^{-9}\ m^2s^{-1}$.

24. Odgovor B. NaOH je majhna molekula in ima večji difuzijski koeficient kot fenolftalein, ki ima večjo molsko maso in zato manjši difuzijski koeficient. Posledično bo molekula fenolftaleina v istem času prepotovala krajšo razdaljo kot molekula NaOH.

25. V mojem telesu je približno 100.000.000.000.000 (100×10^{12}) celic.

V mojem telesu je približno 100.000 milijard celic.

V naši galaksiji Rimski cesti je približno 200.000.000.000–400.000.000.000 (200×10^{9}–400×10^{9}) zvezd.

V mojem telesu je približno 250–500-krat več celic kot je zvezd v naši galaksiji.

26. Z difuzijo bi molekule kisika v povprečju potovale od mojih pljuč do palca na nogi približno 3 leta. Z difuzijo bi molekule glukoze v povprečju potovale od mojega črevesja do možganov približno 5,5 leta.

27. Iz podatkov je razvidno, da delci potrebujejo več časa, da prepotujejo daljše razdalje. Pri razdaljah v velikostnem razredu µm so časi kratki, v velikostnem razredu stotink ali tisočink sekunde, za manjše molekule. Pri razdaljah v velikostnem razredu cm, se časi podaljšajo v ure, pri razdaljah v velikostnem razredu m, pa merimo čas za

opravljeno pot v letih. Logičen sklep je, da difuzija ni učinkovit način transporta snovi na daljše razdalje, zato so organizmi v evoluciji razvili različne oblike transportnih sistemov (za katere je potrebna energija), ki omogočajo učinkovito oskrbo vseh tkiv. Difuzija kot oblika transporta pri večjih organizmih se je ohranila le pri transportu delcev na kratke razdalje, na primer iz kapilar v medcelično/celice (ali nasprotno), saj so le v takšnih primerih difuzijske razdalje dovolj majhne za učinkovit transport delcev z difuzijo. Na dolge razdalje se snovi prenašajo z masnim tokom snovi, ki ga poganja gonilna razlika (npr. masni tok snovi po cevkah transportnega sistema, v katerem ustvarja tlačno gonilno razliko črpalka – srce). Drug tak primer je gradient vodnih potencialov, ki je gonilna sila toka vode in mineralnih snovi po rastlini navzgor (transpiracija), ali koreninski tlak – kot posledica vstopanja vode v korenino, nastane v korenini koreninski tlak, ki rahlo potiska vodo navzgor po rastlini. Posledica koreninskega tlaka je gutacija (izločanje kapljic vode z roba lista rastline).

28. Ker so celice pljučnega mehurčka zelo sploščene in ker tesno ob celicah ležijo stene kapilar, katerih stena je prav tako zgrajena iz ploščatih celic, poleg tega pa je tudi svetlina kapilare ravno tolikšna, da skoznjo »potuje« le ena rdeča krvna celica, je difuzijska razdalja za pline kratka (sodeč po sliki okrog 1 µm).

29. Z gostim prepletom žil je v listu zagotovljen hiter transport snovi do posameznih delov lista (skupkov celic). Od tu do posameznih celic pa so razdalje kratke, zato lahko snovi iz tankih žil v tkivu do posameznih celic tkiva potujejo z difuzijo.

30. Zaradi vlažne kože, ki omogoča, da se plini v vodi raztapljajo, in zaradi gostega prepleta kapilar tik pod povrhnjico je difuzijska razdalja za pline dovolj kratka za učinkovito izmenjavo dihalnih plinov.

31. Pri višji temperaturi delci v povprečju v določenem času prepotujejo večjo razdaljo kot pri nižji temperaturi.

Pri višji temperaturi se delci gibajo hitreje kot pri nižji temperaturi.

32. Da, tudi v našem primeru so bili rezultati podobni. Molekule NaOH so v istem času prepotovale daljšo razdaljo pri višji temperaturi (30 °C) kot pri nižjih temperaturah. Prepotovana razdalja je bila najkrajša pri temperaturi 0 °C.

33. Encimske reakcije bi pri višjih temperaturah potekale hitreje. Vzrok za to je večja kinetična energija delcev, večja hitrost gibanja, kar posledično omogoča večje število trkov. Večje kot je število trkov med molekulami, več je »uspešnih« trkov, ki omogočijo vezavo substrata na encim, s tem se pospeši hitrost encimske reakcije.

Izhodišča/opozorila in predlogi

Opisana vaja dopolnjuje/nadaljuje sklop vaj, ki so bile objavljene v priročniku Znanost gre v šolo (Vilhar et al., 2007). Vaja je praktična izvedba vaje Kaj je difuzija in kako hitro poteka? – v istem priročniku. Ker so v omenjenem gradivu zelo dobro predstavljene teoretične osnove difuzije in napačne predstave dijakov o samem procesu, se tega dela na tem mestu ne dotikam.

Druga že znana različica laboratorijske vaje je bila objavljena v delavnem zvezku Biologija, laboratorijsko delo in Navodila za laboratorijsko delo (S. Pevec, 2003).

Prednost vaje je v tem, da dijaki spremljajo potek difuzije in tako sami pridejo do realnih (bolj ali manj natančnih) rezultatov, ki jih morajo matematično obdelati in ustrezno predstaviti.

Nepričakovane rezultate izkoristimo za diskusijo z dijaki o vzrokih zanje in o tem, kako bi jih odpravili.

Ker vsak dijak pride do svojih rezultatov, je z zbiranjem le-teh in računanjem povprečne vrednosti zmanjšana napaka merjenja, posledično pa realnejši rezultati.

Naloga je primerna za utrjevanje veščin raziskovalnega dela, saj lahko vključimo vse korake, od hipoteze (ki ne podaja le odgovora na raziskovalno vprašanje, ampak vključuje tudi napoved) prek eksperimentalnega dela do zbiranja, urejanja in ustrezne predstavitve rezultatov. Poleg tega daje izhodišče za samostojno načrtovanje drugih eksperimentov na to temo, v katerih dijaki spreminjajo različne dejavnike (temperaturo, izbirajo različne indikatorje in so pozorni na velikost molekule, gostoto agarja). Nazadnje je dobro izhodišče za preverjanje znanja, saj so to temeljna znanja, brez katerih si pri pouku biologije ne moremo predstavljati poučevanja fiziologije celice ali fiziologije posameznih organskih sistemov pri vseh živih bitjih, potrebujemo pa jih pri ekologiji in mikrobiologiji.

V pogovorih z učitelji smo ugotovili, da je potrebno in vredno v prvem letniku nameniti veliko časa temu, da dijaki usvojijo temeljne koncepte, ki jih zahteva učni načrt za biologijo. Brez teh znanj dijaki težko napredujejo v višjih letnikih, ali povedano drugače, učitelji imamo manj dela pri razlagi fizioloških dogajanj, če dijaki to snov razumejo že na začetku izobraževanja, torej v prvem letniku.

Razumevanje koncepta, da je difuzija oblika transporta snovi, za katerega celica ne potrebuje lastne energije, in tega, da je difuzija dovolj učinkovit način transporta snovi le na zelo kratke razdalje, je ključno. Nanj lahko navežemo nujnost aktivnih transportov v celici (kdaj in zakaj so potrebni) in transportnih sistemov pri večceličnih organizmih, kjer je razmerje med prostornino in površino telesa izjemno neugodno za oskrbo s pomočjo difuzije, pa tudi to, da kompleksnost zgradbe zahteva učinkovitejši prenos potrebnih snovi v celice/tkiva in metabolnih produktov iz celic/tkiv.

Organizmi, ki lahko preživijo tako, da večino snovi (vodo, pline) izmenjujejo z okoljem z difuzijo in te snovi na ta isti način oskrbujejo vse celice njihovega večceličnega telesa, morajo biti majhni in tanki (razvejani, konveksni), da so difuzijske razdalje kratke. Primeri takih organizmov so, na primer, nekateri ploski in valjasti črvi. Pri organizmih, ki imajo kompleksno zgradbo, pa difuzija poteka med celicami in medcelično ali različnimi cevkami/lumni (ledvičnimi cevkami, kapilarami, alveolami) in celicami.

Kopenski organizmi imajo zelo slabo prepustno ali popolnoma neprepustno telesno površino, predvsem zaradi zmanjševanja izgub vode. Zato je difuzija preko

takšne telesne površine že v izhodišču onemogočena. V tem primeru so organizmi telesne površine, namenjene izmenjavi snovi, uvihali navznoter in jih tako zaščitili pred neugodnimi okoljskimi vplivi. Problem, ki se ob tem nujno pojavi, je velikost površine, ki jo je treba povečati. Strategije so različne: od pregrad/sept, do gub in mehurčkov.

Načinov ugotavljanja učinkovitejše difuzije je več: povečevanje površine, povečevanje razlike v koncentracijah snovi, ki prehajajo, vzdrževanje stalnega koncentracijskega gradienta (protitočni sistem), favoriziranje manjših molekul, višanje temperature.

Z evolucijo se organi razvijajo tako, da je omogočena učinkovita difuzijska oskrba vseh celic. Pri majhnih organizmih, ki imajo ugodno razmerje med površino in prostornino telesa, je neposredna difuzija mogoča. Pri večjih organizmih zaradi razmerja med površino in prostornino telesa neposredna difuzija preko telesne površine ne zadošča več. Zato so večji organizmi z razvojem organskih sistemov, kot so dihala, prebavila, izločala in transportni sistem (krvožilje), rešili problem neposredne oskrbe celic.

Predstavitev primerov konkretizacije

V nadaljevanju so predstavljeni trije različni načini, kako lahko vajo vpletemo v redni pouk ali pa izkoristimo priložnosti, ko imamo na voljo več ur pouka. V okviru naravoslovnih projektnih dni ali medpredmetnih povezav (fizika, kemija, matematika).

Predstavljeni so tudi uporabljeni pripomočki, ki so preprosti in jih najdemo v vsakem šolskem laboratoriju.

1 Eno do dve šolski uri

Celotna vaja, predstavljena v tem gradivu, je preobsežna, da bi jo lahko v celoti izvedli v eni šolski uri. Učitelj lahko sam izbira naloge in jih poljubno kombinira, glede na cilje učne ure. V eni šolski uri lahko izvedemo praktični del, dijaki zapišejo svoje meritve, na tabli zberejo meritve vseh dijakov in izračunajo povprečne vrednosti meritev. Za risanje grafov praviloma že zmanjka časa, a to delo lahko opravijo dijaki doma.

Preden se odločimo za izvedbo te vaje, morajo dijaki imeti vsaj teoretično predznanje o difuziji – fizikalne osnove pojava. Morebiti je smiselno preveriti, ali vedo, kaj so indikatorji, glede na to, da imamo opravka s fenolftaleinom.

Priporočam, da uro pred izvedbo dijakom izročite gradivo in že doma razmislijo/zapišejo hipotezo ter se pripravijo na izvedbo vaje. Že tu je prvi element, ki ga lahko upoštevate pri ocenjevanju (ali pride dijak na vajo pripravljen, ve kaj mora delati, upošteva navodila itd.).

Sodelovanje in pomoč laboranta sta nujna. Predhodno mora pripraviti petrijevke z agarjem in drugi material po navodilu, pri sami vaji pa je nepogrešljiv pomočnik (individualno delo dijakov).

Če so dijaki pripravljeni na vajo, lahko hitro začnejo izvajati meritve, ki trajajo 25(–36) minut. Vmesni čas med čakanjem, da difuzija steče do predvidenega časa,

lahko izkoristijo za reševanje vprašanj v delovnem listu, za katera niso potrebni rezultati vaje.

Rezultate meritev sproti zbiramo in jih zapisujemo na tablo ali vnašamo v računalnik ter projiciramo, da si jih dijaki prepišejo in lahko izračunajo povprečne vrednosti.

Opomba za učitelje: Smiselno je, da dijaki posamezno prinašajo rezultate meritev in se poskušamo izogniti morebitnemu prirejanju podatkov.

Če delo poteka nemoteno, nam ostane vsaj 10–15 minut časa, ki ga izkoristimo za to, da si dijaki prepišejo vse rezultate s table v svojo tabelo, in se pogovorimo o težavah pri vaji in nadaljnjem delu doma. Za domačo nalogo dijaki predstavijo rezultate v grafični obliki in jih ustrezno obrazložijo. Alternativa je, da vajo izvajamo dve uri in vse opravimo v šoli, po končanem delu dijaki oddajo poročila, odločitev je odvisna od razpoložljivega časa.

Opomba za učitelje: Če imate na razpolago dve šolski uri, je smiselno, da dijaki podatke uredijo v šoli in interpretirajo rezultate. Kot dodatno nalogo za dijake lahko uporabite podatke o izmerjenih difuzijskih razdaljah pri različnih temperaturah iz tega gradiva.

Vajo v tej izvedbi lahko nadgradimo, če dijaki izvedejo difuzijo pri različnih temperaturah. Smiselna (in preizkušena) je izvedba na ledu in pri višji temperaturi (28°C). Razlike v hitrosti difuzije so dovolj velike, da so rezultati primerljivi in uporabni za nadaljnjo obdelavo in razlago. Izvedba je odvisna od tega, koliko časa imamo na razpolago za izvedbo. V tem primeru dijake razdelimo v tri skupine, od katerih vsaka izvede vajo pri določeni temperaturi. Ves preostali postopek je enak. V nasprotnem primeru pa lahko uporabimo rezultate iz tega gradiva, ki so izhodišče za dodatne naloge in razmišljanje dijakov.

2 V povezavi z gradivom iz priročnika Znanost gre v šolo

Ker je učni načrt za biologijo (zlasti v prvem letniku) zelo obsežen, si večina učiteljev težko privošči, da bi za izvedbo vaj na temo difuzije in osmoze porabili več ur. Prvič sem sama izvedla celoten sklop vaj na to temo (po navodilih v Znanost gre v šolo) z dijaki prvega letnika gimnazije v okviru informativnega dne (11. in 12. 2. 2011). Namen informativnega dne je predstavitev šole in dejavnosti. Ker traja praviloma v petek cel dan in soboto dopoldan, je načeloma šola prazna (brez dijakov in pouka). Zato sva se s kolegico odločili, da bomo petkovo popoldne in sobotno dopoldne v soglasju z dijaki in njihovimi starši imeli pouk. »Izredne vaje« so trajale pet šolskih ur.

Lani smo imeli dva oddelka v prvih letnikih gimnazije, skupaj 59 dijakov. Dijake obeh razredov sva razdelili v dve skupini (I. skupina – petek popoldne in II. skupina – sobota dopoldne), glede na možnosti – kraj bivanja, avtobusni prevozi, obšolske obveznosti. Dejavnosti so bile oba dneva enake.

Opisala bom potek dela skupine:

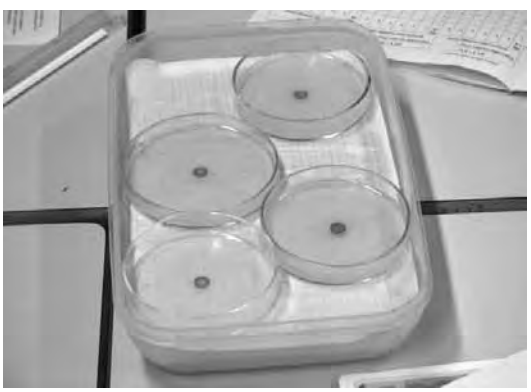
Začeli smo skupaj v biološki učilnici z vajo *Difuzija* – igra vlog in nadaljevali z *Osmozo* – igra vlog (glej Znanost gre v šolo) dosledno po navodilu.

Ko smo končali, sva dijake razdelili v dve skupini: prva je nadaljevala delo z vajo *Gibanje delcev v živi celici* in *Gibanje delcev oglja v kapljici vode*. Mikroskopsko sliko smo s pomočjo kamere, priključene na mikroskop, projicirali na platno in se pogovarjali o vzrokih gibanja delcev v živi celici in o vzrokih, ki omogočajo gibanje delcev oglja.

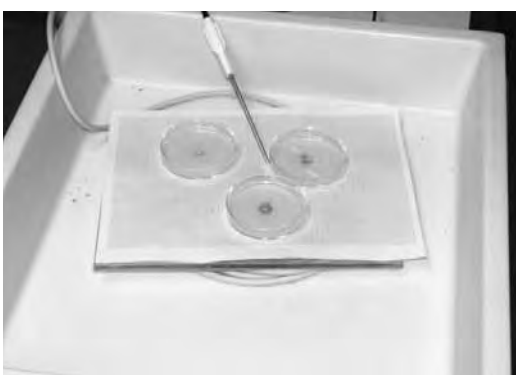
Druga skupina pa se je preselila v fizikalni praktikum, kjer imamo šest računalnikov, in izvedla vajo: *Računalniška animacija* – Gibanje majhnih delcev v tekočinah in plinih. Vsak dijak je opravil dve meritvi. Dijaki so sproti zapisovali rezultate svojih meritev, na koncu vaje pa smo jih vnesli v tabelo v računalnik.

Ko sta skupini končali delo, sta zamenjali dejavnost, tako da so vsi dijaki opravili vse vaje.

Po tem sklopu smo nadaljevali z vajo *Difuzija v agarju v petrijevkah***.** Vse dijake sva razdelili v tri skupine in vsaka skupina je merila hitrost difuzije NaOH v agarju pri različnih temperaturah (prva skupina pri 0°C, druga skupina pri sobni temperaturi in tretja skupina pri višji temperaturi (28°C). Za prvo skupino smo pripravili kos ledu, za tretjo skupino pa smo uporabili grelec za terarijske živali, ki je umerjen na 40°C – polžasto smo ga zavili na dno velike banjice in pritrdili z lepilnim trakom, vse skupaj pokrili s peskom, na katerega so dijaki postavili milimetrski papir in petrijevke z agarjem.



Fotografija 1, 2: Izvedba difuzije pri temperaturi 0°C (lasten arhiv).

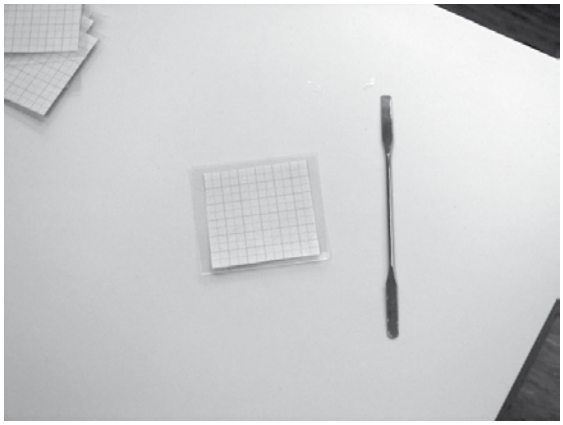


Fotografija 3, 4: Izvedba difuzije pri temperaturi 30°C (lasten arhiv).

Med potekom vaje so merili temperaturo agarja. Ker na šoli nimamo termostatiranih kopeli ali drugih ustreznejših grelcev, s katerimi bi lahko dosegli, da bi bile vse

petrijevke izpostavljene enaki temperaturi, so bila temperaturna odstopanja med posameznimi petrijevkami do 5°C. Skupina, ki je izvajala vajo pri sobni temperaturi, je milimetrski papir in petrijevke položila na mizo.

Merjenje obarvanega kolobarja lahko poenostavimo, če milimeterski papir narežemo na kvadratke velikosti 5 x 5 cm in jih plastificiramo. Služijo nam kot priročna merilca.



Fotografija 5: Spatula z zaokroženim robom in merilce iz milimetrskega papirja (lasten arhiv).

Dijaki so sproti zapisovali rezultate svojih meritev, na koncu vaje pa smo jih vnesli v tabelo v računalnik.

Med čakanjem, da je difuzija potekala, smo pripravili še demonstracijsko vajo z agarnimi kockami (naslov vaje Razmerje med hitrostjo difuzije in velikostjo celice, (S. Pevec), pogledali rezultate in odgovorili na nekatera vprašanja na koncu delovnega lista.

Rezultate obeh skupin (petkove in sobotne) smo objavili v spletni učilnici za biologijo, na spletni strani šole, tako da so do podatkov imeli dostop vsi dijaki.

Rezultate meritev so morali obdelati in grafično predstaviti ter odgovoriti na vprašanja v delovnih listih.

Vajo »Mešanje barvila z vodo v kozarcu: difuzija ali kaj drugega?«, tudi iz sklopa vaj Znanost gre v šolo sem ponudila kot dodatno prostovoljno domače delo. Vajo so izvedli trije dijaki.

3 V povezavi z vajo Plazmoliza in deplazmoliza celice

V šolskem letu 2011/12 smo ob isti priložnosti (informativni dan) kombinirali vajo Zakaj so celice majhne z vajo na temo plazmolize. Razlog za to odločitev je bil bolj praktične narave, izkoristiti čas za izvedbo redne vaje, ki se konceptualno veže na temo difuzije.

Dodatni pripomočki

- merilca iz milimetrskega papirja, 5 x 5 cm ali 6 x 6 cm (plastificirana, olajšajo odčitavanje vrednosti),

- terarijski grelni kabel in akvarijski pesek,
- plastična posoda z zamrznjeno vodo,
- Lab Quest in temperaturni senzor (ali digitalni ali alkoholni termometer), če vajo izvajate pri različnih temperaturah.

Rezultati izvedbe

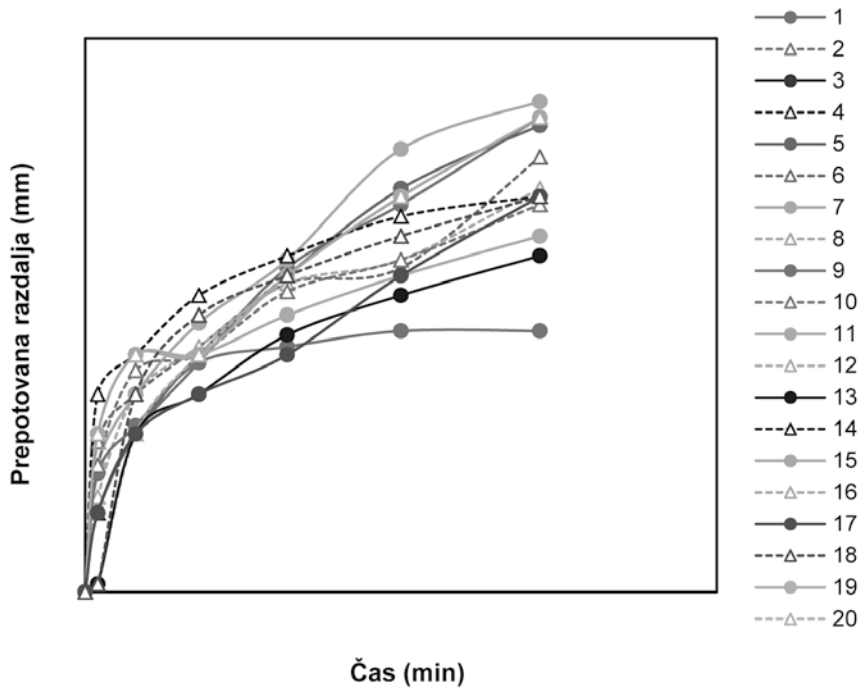
Preglednica 5: Prepotovana razdalja v odvisnosti od časa pri 0 °C, meritve vseh dijakov

	T = 0 °C							
	Čas [min] in prepotovana razdalja [mm]							
Dijak	**0 min**	**1 min**	**4 min**	**9 min**	**16 min**	**25 min**	**36 min**	**49 min**
1	0,0	1,0	2,0	2,9	4,1	4,9	6,0	
2	0,0	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	
3	0,0	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	
4	0,0	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	
5	0,0	1,0	2,0	3,0	4,0	5,1	5,9	
6	0,0	1,9	2,5	3,1	3,9	4,1	5,5	
7	0,0	1,6	2,5	3,4	4,2	5,6	6,2	
8	0,0	1,2	2,5	3,1	3,9	4,2	5,1	
9	0,0	1,5	2,1	2,9	3,1	3,3	3,3	
10	0,0	1,6	2,8	3,0	3,8	4,2	4,9	
11	0,0	2,0	3,0	3,0	3,5	4,0	4,5	
12	0,0	0,1	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	
13	0,0	0,1	2,0	2,5	3,3	3,8	4,3	
14	0,0	2,5	3,0	3,8	4,3	4,8	5,0	
15	0,0	2,0	3,0	3,0	4,0	5,0	6,0	
16	0,0	2,0	3,0	3,0	4,0	5,0	6,0	
17	0,0	1,0	2,0	2,5	3,0	4,0	5,0	
18	0,0	0,1	2,5	3,5	4,0	4,5	5,0	
19								
20								

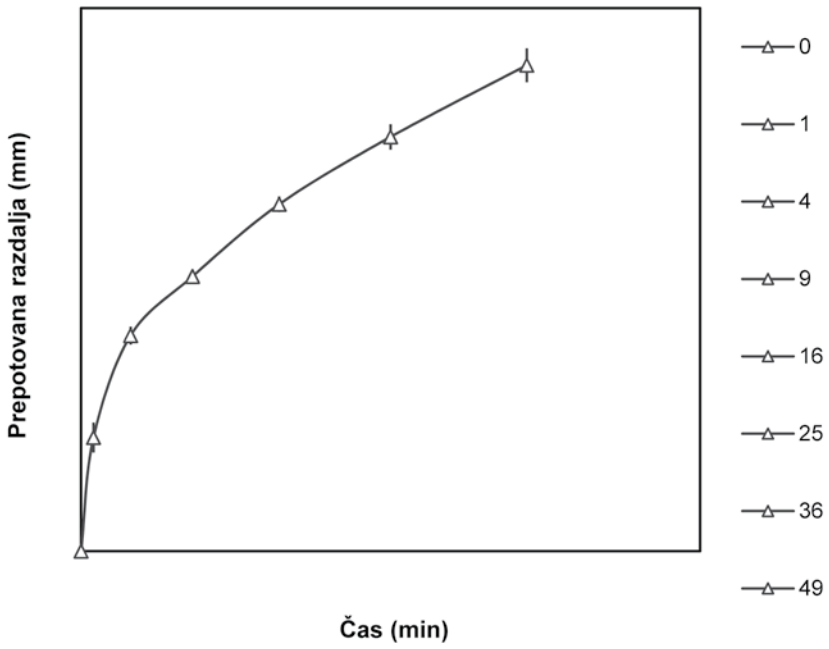
		T = 0 °C							
Čas (min)		**0**	**1**	**4**	**9**	**16**	**25**	**36**	**49**
Število meritev *N*		18	18	18	18	18	18	18	
Povprečna razdalja (mm)		**0,0**	**1,3**	**2,4**	**3,0**	**3,8**	**4,6**	**5,4**	
SD		0,0	0,7	0,4	0,3	0,4	0,6	0,8	
SN		0,0	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	

Oznake osi *x*

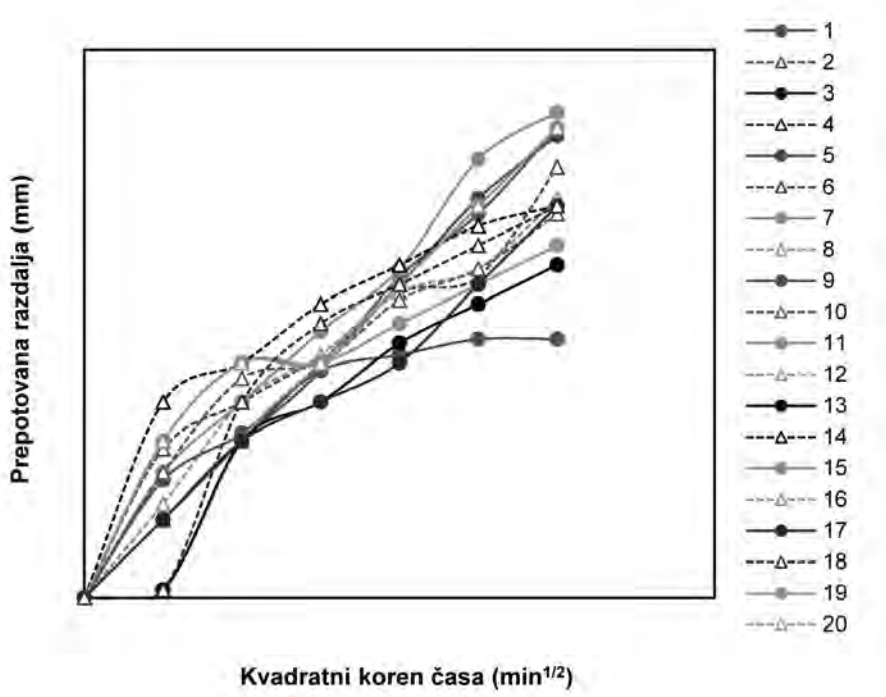
Kvadratni koren časa ($min^{1/2}$)		0	1	2	3	4	5	6	7



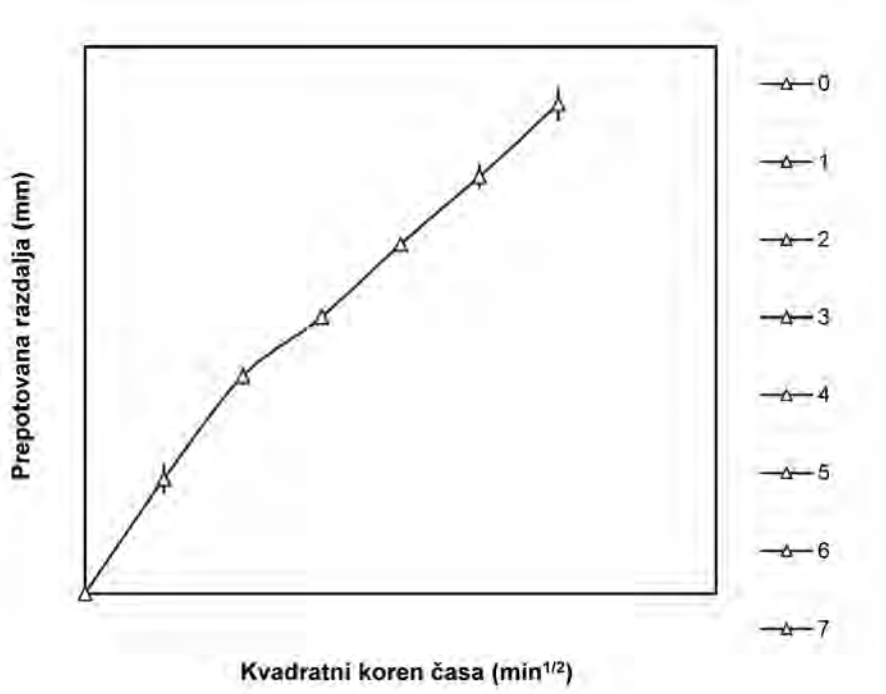
Graf 5: Odvisnost difuzijske razdalje od časa; linearna abscisa, meritve vseh dijakov.



Graf 6: Odvisnost difuzijske razdalje od časa; linearna abscisa, povprečje± standardna napaka pri 0°C.



Graf 7: Odvisnost difuzijske razdalje od časa; na abscisi kvadratni koren časa, meritve posameznih dijakov pri 0°C.



Graf 8: Odvisnost difuzijske razdalje od časa; na abscisi kvadratni koren časa, povprečje ± standardna napaka pri 0°C.

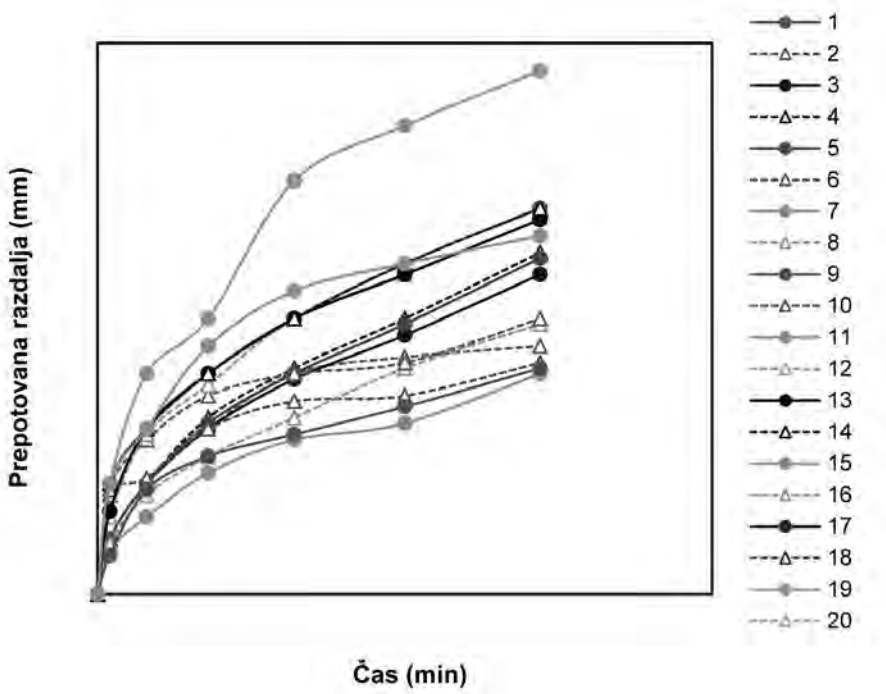
Preglednica 6: Prepotovana razdalja v odvisnosti od časa pri 21 °C, meritve vseh dijakov

T = 21 °C								
	Čas [min] in prepotovana razdalja [mm]							
Dijak	**0 min**	**1 min**	**4 min**	**9 min**	**16 min**	**25 min**	**36 min**	**49 min**
1	0,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	
2	0,0	1,0	2,0	3,0	4,0	4,3	4,5	
3	0,0	1,0	2,0	3,0	3,9	4,7	5,8	
4	0,0	1,0	2,0	3,2	4,1	5,0	6,2	
5	0,0	1,0	2,0	3,1	4,0	4,9	6,1	
6	0,0	1,8	2,1	3,0	3,5	3,6	4,2	
7	0,0	0,8	1,4	2,2	2,8	3,1	4,0	
8	0,0	0,9	1,8	2,5	3,2	4,1	4,9	
9	0,0	0,7	1,9	2,5	2,9	3,4	4,1	
10	0,0	1,9	2,8	3,6	4,0	4,2	5,0	
11	0,0	2,0	4,0	5,0	7,5	8,5	9,5	
12	0,0	1,4	2,9	3,8	5,0	5,8		
13	0,0	1,5	3,0	4,0	5,0	5,8	6,8	
14	0,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	
15	0,0	2,0	3,0	4,5	5,5	6,0	6,5	
16								
17								
18								
19								
20								

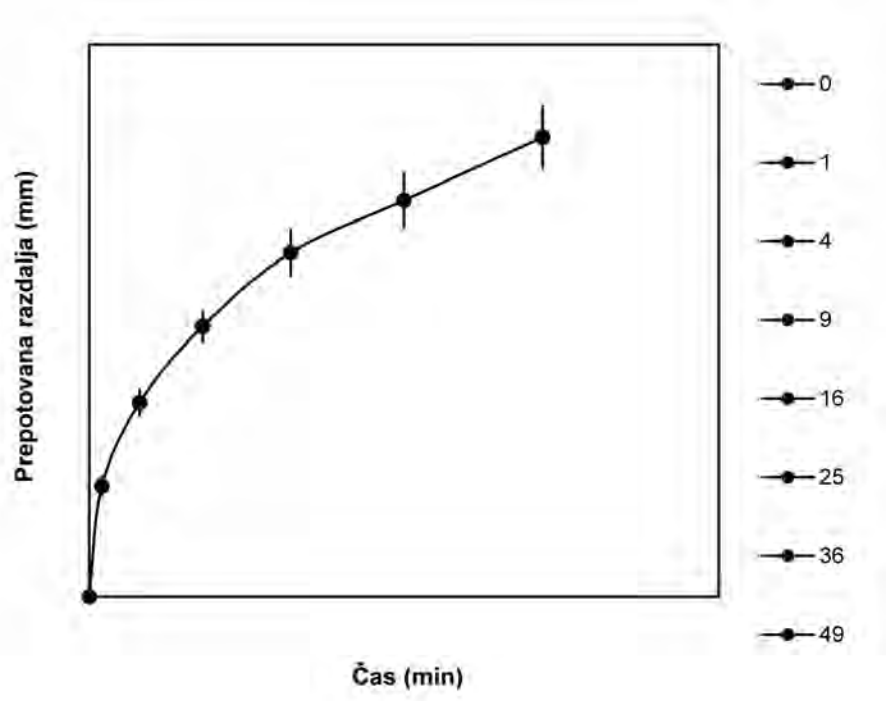
	T = 21 °C								
Čas (min)		**0**	**1**	**4**	**9**	**16**	**25**	**36**	**49**
Število meritev *N*		15	15	15	15	15	15	14	
Povprečna razdalja (mm)		**0,0**	**1,4**	**2,5**	**3,4**	**4,4**	**5,0**	**5,8**	
SD		0,0	0,5	0,7	0,8	1,2	1,4	1,5	
SN		0,0	0,1	0,2	0,2	0,3	0,4	0,4	

Oznake osi *x*

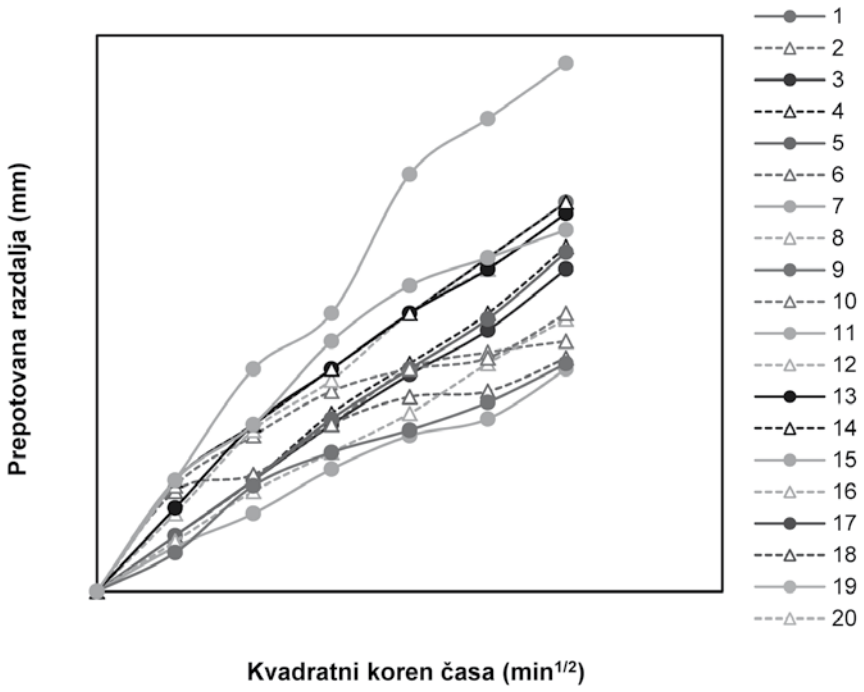
Kvadratni koren časa ($min^{1/2}$)		0	1	2	3	4	5	6	7



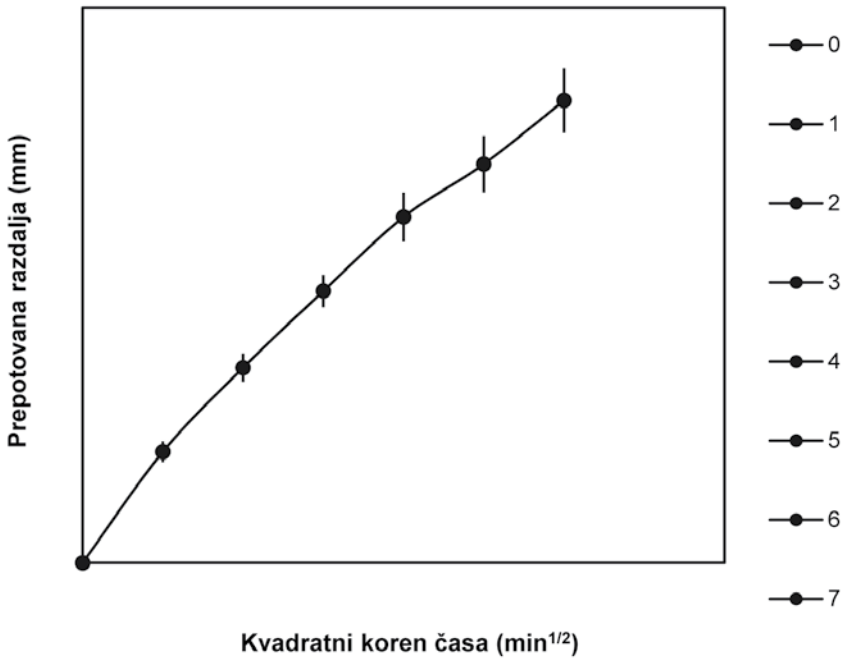
Graf 9: Odvisnost difuzijske razdalje od časa; linearna abscisa; meritve posameznih dijakov pri 21 °C.



Graf 10: Odvisnost difuzijske razdalje od časa; linearna abscisa, povprečje ± standardna napaka pri 21 °C.



Graf 11: Odvisnost difuzijske razdalje od časa; na abscisi kvadratni koren časa; meritve posameznih dijakov pri 21 °C.



Graf 12: Odvisnost difuzijske razdalje od časa; na abscisi kvadratni koren časa; povprečje ± standardna napaka pri 21 °C.

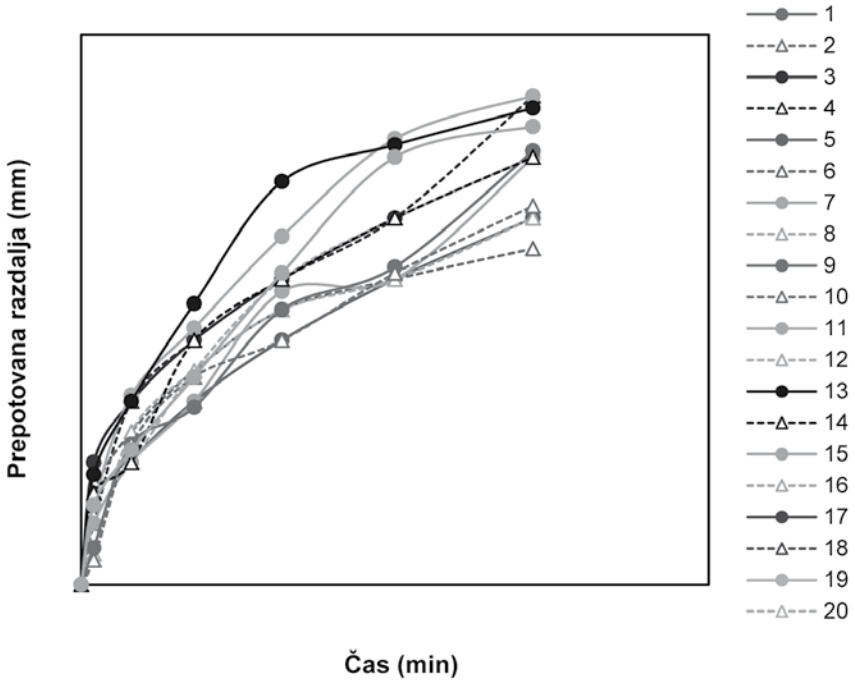
Preglednica 7: Prepotovana razdalja v odvisnosti od časa pri 28 °C, meritve vseh dijakov

T = 28 °C								
Čas [min] in prepotovana razdalja [mm]								
Dijak	**0 min**	**1 min**	**4 min**	**9 min**	**16 min**	**25 min**	**36 min**	**49 min**
1	0,0	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	
2	0,0	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	
3	0,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	
4	0,0	1,0	3,0	4,0	5,0	6,0	8,0	
5	0,0	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	
6	0,0	1,5	2,5	3,5	4,5	5,0	5,5	
7	0,0	1,0	2,0	3,0	4,8	5,0	7,0	
8	0,0	0,5	2,5	3,5	4,5	5,0	6,0	
9	0,0	0,6	2,3	2,9	4,5	5,2	7,1	
10	0,0	0,4	2,3	3,4	4,0	5,1	6,2	
11	0,0	1,3	3,1	4,2	5,7	7,3	8,0	
12	0,0	1,5	2,0	3,5	5,0	6,0	7,0	
13	0,0	1,8	3,0	4,6	6,6	7,2	7,8	
14	0,0	1,5	2,0	4,0	5,0	6,0	7,0	
15	0,0	1,3	2,2	3,4	5,1	7,0	7,5	
16								
17								
18								
19								
20								

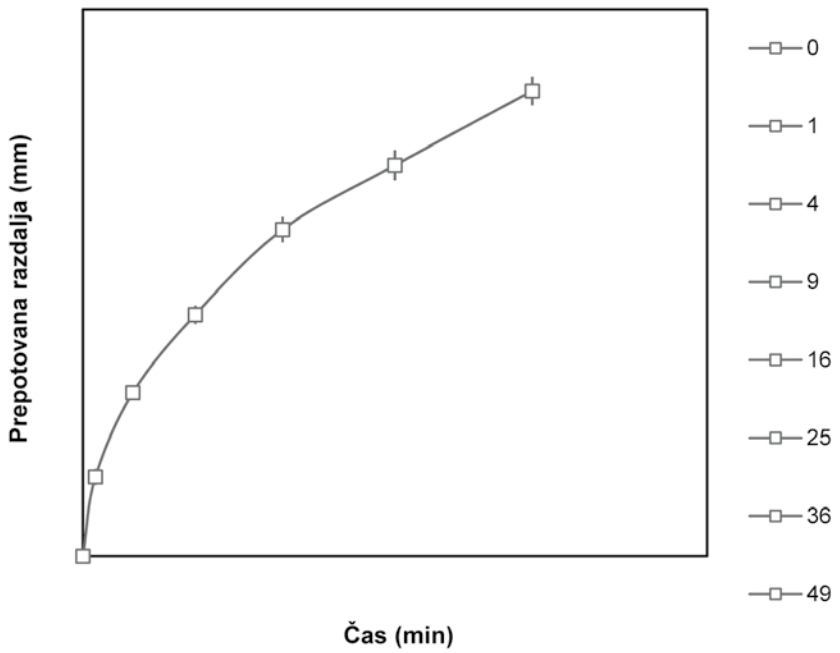
	T = 28 °C								
Čas (min)		**0**	**1**	**4**	**9**	**16**	**25**	**36**	**49**
Število meritev *N*		15	15	15	15	15	15	15	
Povprečna razdalja (mm)		**0,0**	**1,2**	**2,4**	**3,5**	**4,8**	**5,7**	**6,8**	
SD		0,0	0,5	0,4	0,5	0,7	0,9	0,8	
SN		0,0	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,2	

Oznake osi *x*

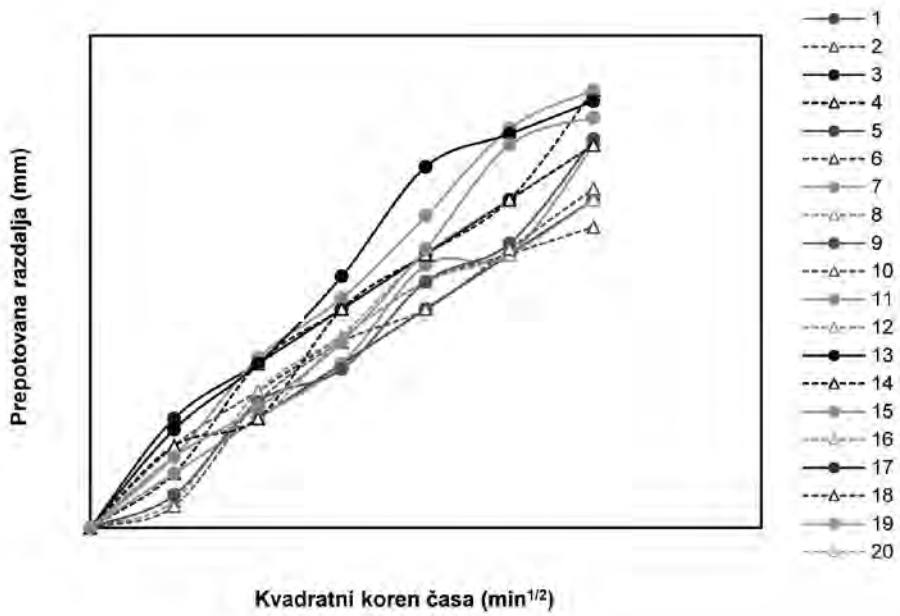
Kvadratni koren časa ($min^{1/2}$)		0	1	2	3	4	5	6	7



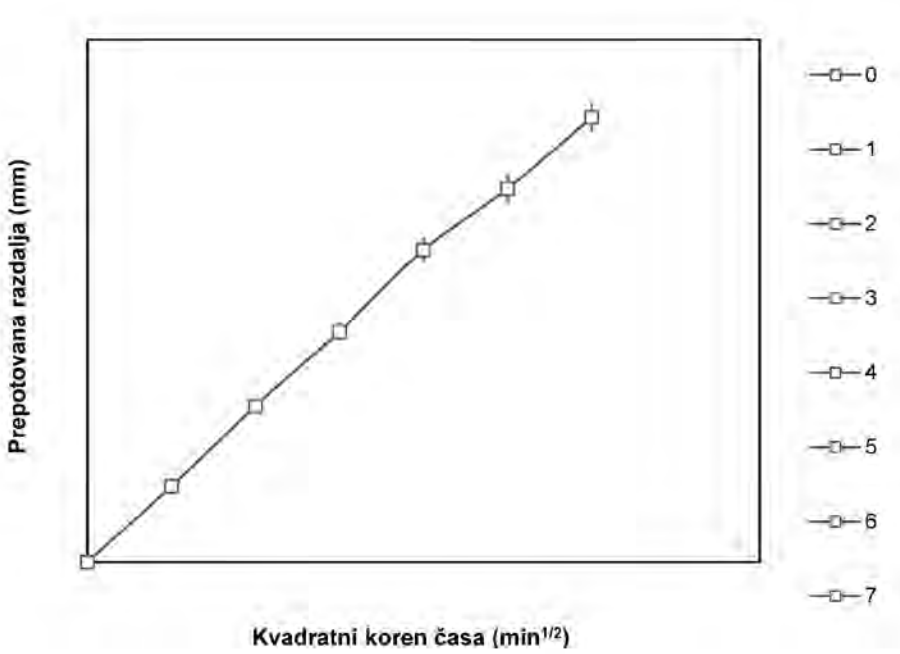
Graf 13: Odvisnost difuzijske razdalje od časa; linearna abscisa, meritve posameznih dijakov pri 28°C.



Graf 14: Odvisnost difuzijske razdalje od časa; linearna abscisa, povprečje ± standardna napaka pri 28°C.



Graf 15: Odvisnost difuzijske razdalje od časa; na abscisi kvadratni koren časa; meritve posameznih dijakov pri 28 °C.



Graf 16: Odvisnost difuzijske razdalje od časa; na abscisi kvadratni koren časa; povprečje ± standardna napaka pri 28 °C.

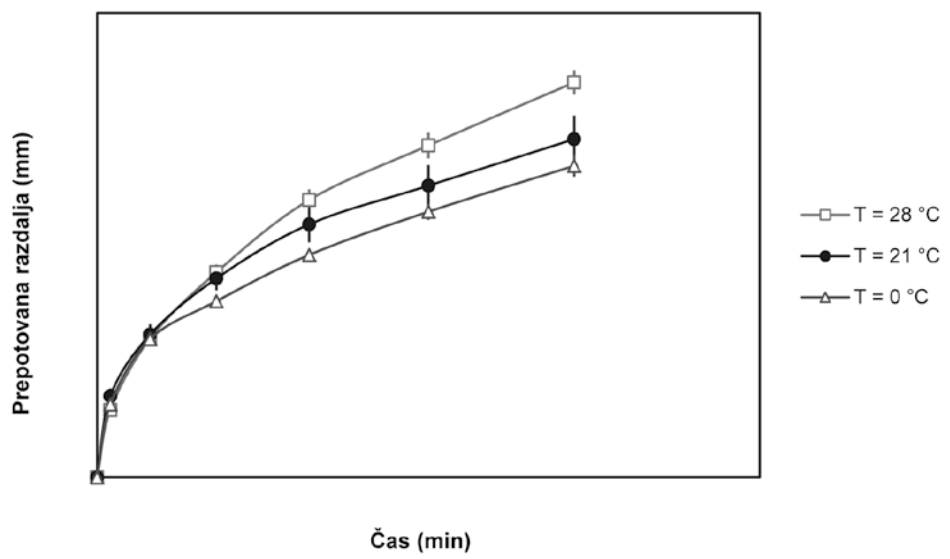
Preglednica 8: Povprečne prepotovane razdalje, standardne deviacije in standardne napake pri temperaturah 0°C, 21°C in 28°C.

	T = 0°C							
Čas (min)	**0**	**1**	**4**	**9**	**16**	**25**	**36**	**49**
Število meritev *N*	18	18	18	18	18	18	18	
Povprečna razdalja (mm)	**0,0**	**1,3**	**2,4**	**3,0**	**3,8**	**4,6**	**5,4**	
SD	0,0	0,7	0,4	0,3	0,4	0,6	0,8	
SN	0,0	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	

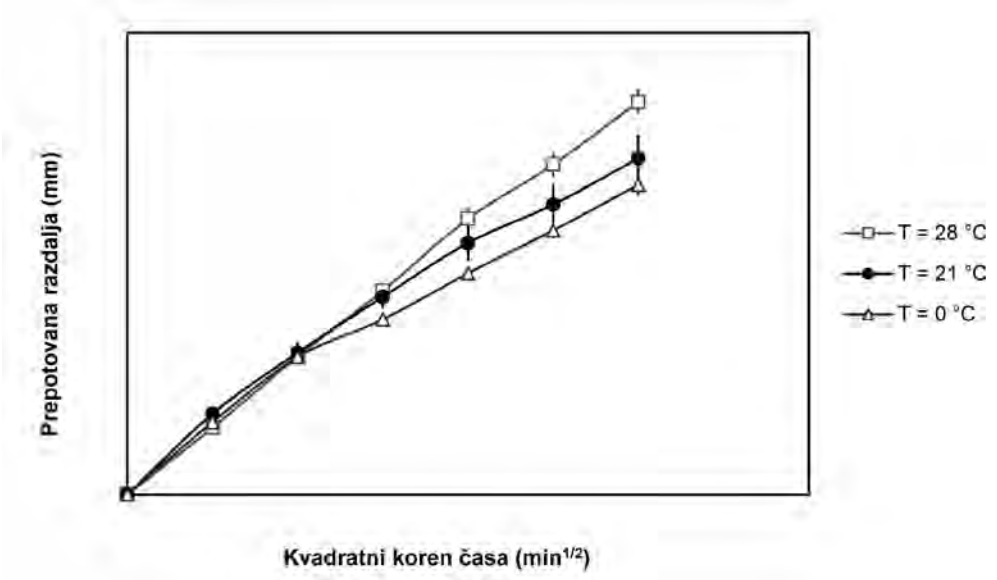
	T = 21°C							
Čas (min)	**0**	**1**	**4**	**9**	**16**	**25**	**36**	**49**
Število meritev *N*	15	15	15	15	15	15	14	
Povprečna razdalja (mm)	**0,0**	**1,4**	**2,5**	**3,4**	**4,4**	**5,0**	**5,8**	
SD	0,0	0,5	0,7	0,8	1,2	1,4	1,5	
SN	0,0	0,1	0,2	0,2	0,3	0,4	0,4	

	T = 28°C							
Čas (min)	**0**	**1**	**4**	**9**	**16**	**25**	**36**	**49**
Število meritev *N*	15	15	15	15	15	15	15	
Povprečna razdalja (mm)	**0,0**	**1,2**	**2,4**	**3,5**	**4,8**	**5,7**	**6,8**	
SD	0,0	0,5	0,4	0,5	0,7	0,9	0,8	
SN	0,0	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,2	

Oznake osi *x*								
Kvadratni koren časa ($min^{1/2}$)	0	1	2	3	4	5	6	7



Graf 17: Odvisnost difuzijske razdalje od časa; linearna abscisa; povprečje in standardna napaka.



Graf 18: Odvisnost difuzijske razdalje od časa; na abscisi kvadratni koren časa; povprečje in standardna napaka.

Komentar rezultatov

Iz rezultatov vaje je razvidna vrednost velikega števila meritev. Čeprav posamezne meritve (pri vseh treh temperaturah) lahko precej odstopajo, nam povprečne vrednosti vseh meritev vendarle dajo smiselne rezultate. Rezultati povprečnih vrednosti so dovolj dobri, da jih lahko primerjamo z rezultati, ki so jih izmerili znanstveniki (slika 9). Odstopanja tako posameznih meritev kot tudi povprečnih vrednosti lahko razložimo z natančnostjo meritev in (ne)ustreznostjo pripomočkov (zagotavljanje stalne temperature v vseh delih petrijevke, morebitne nehomogenosti in neenakomerna debelina agarja, vpliv zunanje temperature na ohlajanje oz. segrevanje agarja).

Literatura in viri

1 *Dermastia, M., Turk, T. (2008). Od molekule do celice – Učbenik za splošno gimnazijo. Ljubljana: Rokus Klett.*

2 *Drašler, J. in sod. (2003). Biologija – Navodila za laboratorijsko delo. Ljubljana: DZS.*

3 *Howe, C. L. (2005). Modeling the signaling endosome hypothesis: Why a drive to the nucleus is better than a (random) walk. Theor Biol Med Model. 2: 43. Dostopno na: http:/--/www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1276819/ (11. 3. 2013).*

4 *Kemija. Commons Wikimedia. Dostopno na: http://commons.wikimedia.org/wiki/Category:Chemistry (11. 3. 2013).*

5 *Miller, K. R., Levine, J. S. (2006). Biology (Alabama). Boston: Pearson Prentice Hall.*

6 *Pevec, S. (2003). Biologija – laboratorijsko delo. Ljubljana: DZS.*

7 *Sušnik, F. in sod. (1974a). Razvoj življenja od molekule do človeka. Ljubljana: Državna založba Slovenije.*

8 *Sušnik, F. in sod. (1974b). Razvoj življenja od molekule do človeka – Priročnik za učitelje. Ljubljana: Državna založba Slovenije.*

9 *Stušek, P., Podobnik, A., Gogala, N. (1997). Biologija 1 – Celica. Ljubljana: DZS.*

10 *Vilhar, B. in sod. (2007). Znanost gre v šolo. Ljubljana: Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo.*

2.1.2 Osmoza v različnih rastlinskih tkivih

Bernarda Devetak, II. gimnazija Maribor

2.1.2.1 Poskus 1: Osmoza v različnih rastlinskih tkivih

Povzetek

Pri eksperimentalnem delu bodo dijaki utrdili znanja o osmozi in ugotavljali razlike v osmotskih procesih in njihovih posledicah pri različnih rastlinskih tkivih, kot so tkiva v gomolju krompirja, jabolku, korenčku in repi. Enako velike koščke tkiv bodo namakali v raztopine saharoze s koncentracijami od 0 do 1 mol/L. Tehtali bodo tkiva pred namakanjem v raztopine sladkorjev in potem.

Trajanje: dve šolski uri.

Povezave z biološkimi koncepti in cilji iz učnega načrta za biologijo

- C1 – razumejo zgradbo biotske membrane in njeno vlogo kot mejo med različnimi razdelki in razumejo izbirno prepustnost biotske membrane in osnovne načine prehajanja snovi skoznjo
- B1 – raziskovanje in poskusi

Dijaki primerjajo osmozo in difuzijo in navedejo podobnosti in razlike.

Medpredmetne povezave

Potrebna predznanja drugih predmetov:

- *fizika:* dijaki definirajo osmotski tlak in znajo izračunati vodni potencial celice v določeni raztopini
- *kemija:* znanja s področja priprave molarnih raztopin
- *okoljska vzgoja:* dijaki spoznajo ravnanje s snovmi in odlaganje snovi

Uvodna vsebinska izhodišča

Osmoza je difuzija vode skozi izbirno prepustno membrano. Uvrščamo jo v pasivni transport snovi, saj zanjo ni potrebna energija. S prehajanjem vode kot topila v celico in iz nje celica vzpostavlja ravnotežje med notranjim in zunanjim okoljem oziroma vzpostavlja razmere v notranjem okolju, primerne za potek življenjskih procesov. Topilo, v tem primeru voda, ima praviloma manjše molekule kot topljenec, zato zlahka prehaja skozi membrano, topljenec pa ne.

Glede na osmotski potencial ločimo tri vrste okolij, v katerih se lahko znajdejo posamezne celice. Okolje, kjer je koncentracija topljenca v celici in zunaj nje enaka in zato vstopa v celico z osmozo enaka količina vode, kot je izhaja iz celice, imenujemo izotonično okolje. Kadar se v zunanjem celičnem okolju pojavi večja koncentracija topljenca, kot ga je v celici, izstopa iz celice večja količina vode, kot

je vstopa v celico. Takšno okolje imenujemo hipertonično okolje, rastlinska celica plazmolizira, protoplast v celici se skrči, živalske celice se skrčijo in izsušijo. Kadar je koncentracija topljenca v celici večja kot zunaj in zato v celico vstopa večja količina vode, kot je izstopa iz nje, imenujemo takšno okolje hipotonično in protoplast nabrekne. Živalska celica, ki nima celične stene, že v rahlo hipotoničnem okolju nabrekne in lahko poči.

Raziskovalno vprašanje

Kako se bo masa rastlinskih tkiv spreminjala v raztopinah saharoze s koncentracijami od 0 do 1 mol/L?

Hipoteze

1. Izotonična točka pri krompirju bo pri nižji koncentraciji kakor pri jabolku.
2. Masa tkiv se bo zmanjševala glede na naraščajočo koncentracijo sladkorja v raztopini.
3. V krompirju bo manj reducirajočih sladkorjev kot v jabolku.
4. Predvidevamo, da bosta tkivi krompirja in jabolka v hipotonični raztopini nabreknili, v hipertonični pa se bosta skrčili.

Predstavitev izvedbe

Navodilo za dijake na priloženem delovnem listu.

Delovni list 1

Osmoza v različnih rastlinskih tkivih

Uvod

Osmoza je difuzija vode skozi izbirno prepustno membrano. Vodni potencial tkiv lahko izrazimo kot spremembo prostornine ali mase tkiva, ko jih potopimo v raztopino z različnimi koncentracijami topljenca. Pri tem eksperimentu bomo merili spremembo mase enako velikih koščkov rastlinskih tkiv v raztopinah z različnimi koncentracijami saharoze. Primerjali bomo tkiva jabolka in krompirja.

Material

- 12 velikih epruvet ali centrifugirk z zamaški
- pinceta
- ravnilo
- flomastri za pisanje po steklu
- krovna in objektna stekla
- 4 epruvete
- rezalnik krompirja
- mikroskop
- čaša – 250 ml
- skalpel
- urno steklo
- stojalo za epruvete
- tehtnica
- epruvete
- terilnica in pestilo
- destilirana voda
- vžigalice
- gorilnik
- jabolka
- plutovrt
- krompir
- merilne bučke z različnimi koncentracijami saharoze: 0, 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 in 1 mol/L
- kuhalnik in čaša z vodo za vodno kopel

Postopek

1. *S pomočjo plutovrta ali rezalnika izrežete iz olupljenih gomoljev krompirja in iz jabolk po 20 oz. po 30 koščkov. Vsi koščki morajo biti enake dolžine (3–4 cm) in enakega premera. V epruvete nalijte enako količino sladkornih raztopin različnih koncentracij in epruvete ustrezno označite. V vsako epruveto dodajte košček jabolka ali krompirja, ki ste ga predtem stehtali. V raztopine določene koncentracije sladkorne raztopine dodajte po pet koščkov. Pet koščkov mora biti z enako koncentracijo sladkorne raztopine. Epruvete pokrijte z zamaški ali aluminijasto folijo. Naslednji dan vzemite koščke iz raztopin, osušite jih s papirnato brisačo in jih stehtajte. Opazujte, če je prišlo tudi do kakšnih kakovostnih sprememb! Podatke vnesite v tabelo. Pazite na natančnost meritev in zbiranja podatkov.*

2. *V jabolku in krompirju določite vsebnost škroba in reducirajočih sladkorjev. Uporabite znane barvne dokazne reakcije.*

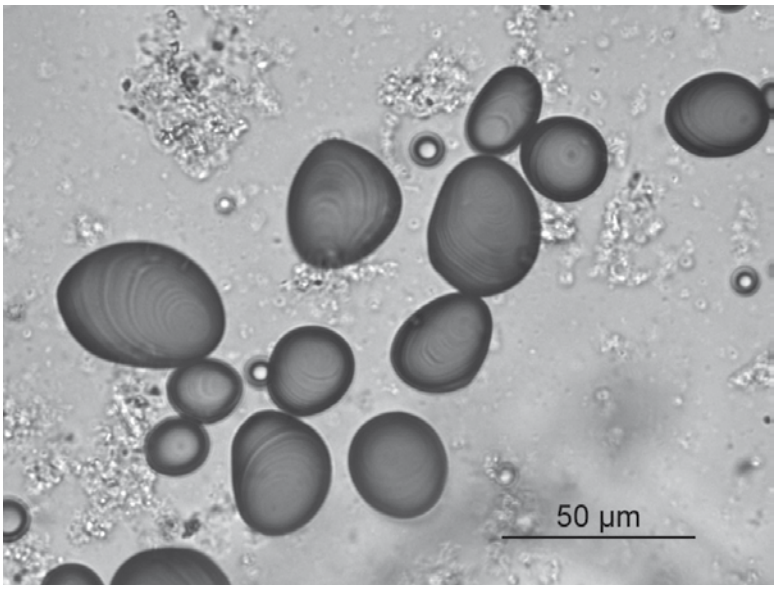
Vsebnost škroba določamo s pomočjo jodovice. Krompirjev gomolj nastrgamo v čašo in dodamo enako količino vode. Pripravimo si lij s filtrirnim papirjem in ju namestimo v epruveto, ki jo postavimo v stojalo. Nato zmes filtriramo. V drugo epruveto nalijemo 1 ml filtrata in dodamo nekaj kapljic jodovice. Opazujemo spremembo barve. Nekaj kapljic jodovice dodamo tudi tkivu, ki je ostalo na filtrirnem papirju. Zapišemo spremembo barve.

Določanje reducirajočih sladkorjev v krompirjevem gomolju

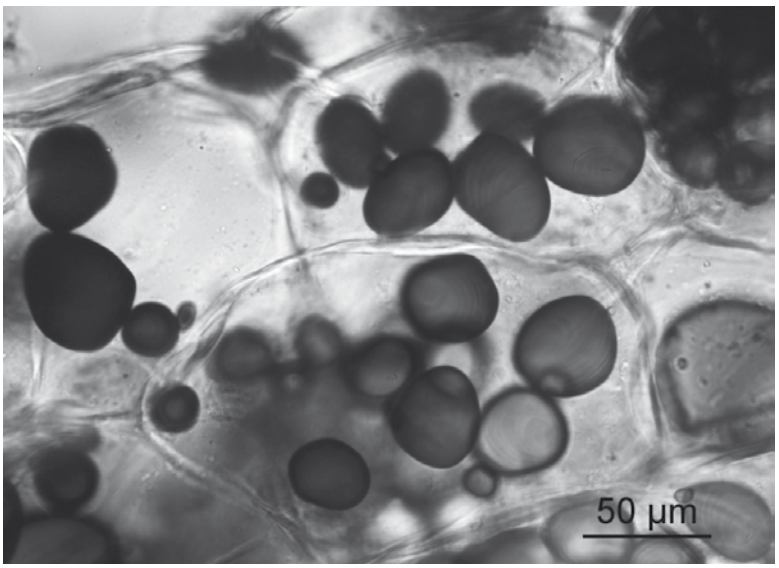
V svežo epruveto nalijemo filtrat krompirjevega tkiva, ki smo ga pripravili po opisanem postopku. Dodamo 1 ml Benediktovega reagenta in epruveto segrevamo v vroči vodni kopeli. Opazujemo spremembo barve.

3. Opazovanje amiloplastov v celicah krompirjevega gomolja

3a. *Odrežite tanko rezine krompirjevega tkiva in ga namestite na objektno steklo. Dodajte kapljico vode in pokrijte s krovnim steklom. Opazujte celice v tkivih krompirjevega gomolja, ki vsebujejo amiloplaste – škrobna zrna. Ob robu krovnega stekla dodajte kapljico jodovice in opazujte spremembo barve.*



Slika 1: Škrobna zrna iz krompirjevega gomolja, obarvana z jodovico. (Foto: Bernarda Devetak)



Slika 2: Celice krompirjevega gomolja z amiloplasti. Amiloplasti (škrobna zrna) so obarvani z jodavico. (Foto: Bernarda Devetak)

3b. *Pripravite mikroskopski preparat – odrežite tkivni rezini krompirja, eno namočite v destilirano vodo, drugo pa v 0,8-molarno raztopino sladkorja. Oglejte si ju pod mikroskopom. Narišite tri celice in skico označite. Da bodo rezultati bolje vidni, lahko škrobna zrna obarvate z jodovico.*

Preverite znanje in razumevanje

1. Vnesite podatke v tabelo.
2. Narišite graf, ki bo prikazoval % spremembe mase krompirjevih koščkov v raztopinah sladkorja od 0 do 1mol/L. Narišite regresijsko premico in izračunajte regresijski koeficient.
3. Ali lahko na podlagi dobljenih rezultatov trdite, da koncentracija sladkorne raztopine vpliva na maso krompirjevih in jabolčnih koščkov?
4. Kako bi spremembe, vidne pod mikroskopom, povezali z rezultati na makroskopski ravni (meritve mase)?
5. Razložite vzroke za spremembe mase krompirjevih in jabolčnih koščkov v destilirani vodi in v 0,8-molarni raztopini sladkorja.
6. V kateri fazi osebnega (ontogenetskega) razvoja rastline potekajo procesi, pri katerih se poveča tkivo podobno kot pri krompirjevih in jabolčnih koščkih?
7. Zakaj se ne pokvarijo živila, kot so pršut, med, kislo zelje ...?

Dodatni poskus

V krompirju, ki je zmrznil, pride do fizikalnih sprememb v strukturi škroba, zato se spremeni stopnja hidratacije. Predvidevamo, da bo izotonična točka pri zmrznjenem krompirju nižja kot pri svežem, saj se več molekul vode porabi za hidratacijo spremenjenega škroba. Učenci lahko prejmejo neznane vzorce krompirja in ugotovijo, kateri je bil izpostavljen zmrzali.

Viri

1 *Devetak, B. (1998). Proučevanje osmoze pri dveh različnih rastlinskih tkivih. Gradivo iz študijske skupine za biologijo. Maribor: Zavod RS za šolstvo.*

2 *Pickering, W. B. (1996). Biologija – shematski pregledi. Ljubljana: Tehniška založba Slovenije.*

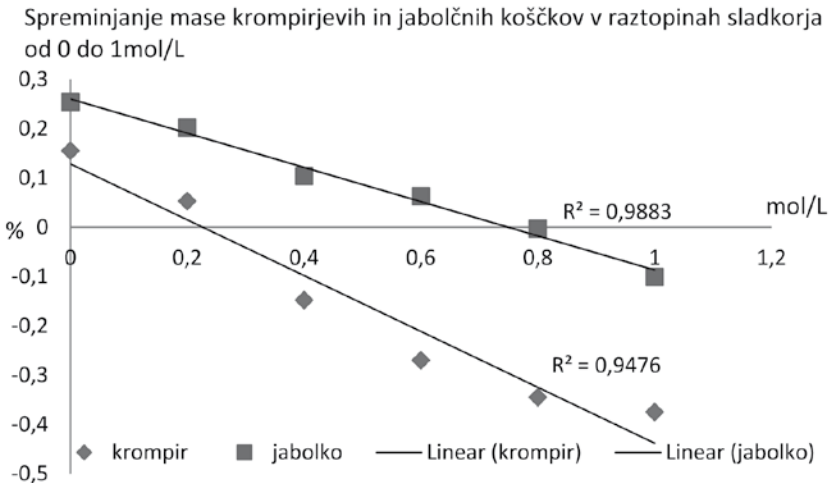
Predvideni rezultati in ugotovitve poskusa I

Osmoza v različnih rastlinskih tkivih

Rezultate dijaki vpišejo v preglednico in narišejo graf z regresijsko premico in z vrednostjo regresijskega koeficienta.

Preglednica 1: Povprečne vrednosti mase tkiv krompirja in jabolka v raztopinah saharoze.

KROMPIR	$m\Delta$(g)	1,00	0,34	–0,95	–1,78	–2,35	–2,51
	%	15,5	5,3	–14,8	–27	–34,5	–37,5
JABOLKO	$m\Delta$ (g)	0,96	0,80	0,39	0,23	–0,01	–0,38
	%	25,4	20,2	10,4	6,3	–0,3	–10,1



Slika 1: Spreminjanje mase koščkov krompirja v odvisnosti od koncentracije saharoze.

Na podlagi obdelave rezultatov lahko sklepamo:

- Pri krompirju in jabolku se masa koščkov v destilirani vodi povečuje.
- Z naraščajočo koncentracijo saharoze se masa koščkov zmanjšuje zato, ker zaradi višjega vodnega potenciala v celicah voda celice zapušča.
- Masa se jabolku poveča pri koncentracijah, nižjih od 0,8 mol/L.
- Masa se krompirju poveča pri koncentracijah, nižjih od 0,2 mol/L.
- Iz grafa je razvidno, da je izotonična točka pri krompirju pri 0,25 mol/L in jabolku 0,8 mol/L.
- Jabolčno tkivo ima nižji vodni potencial kot krompirjevo tkivo.
- Reakcija z Benediktovim reagentom je v filtratu jabolka pokazala višjo koncentracijo reducirajočih sladkorjev kot v filtratu krompirja.
- V mikroskopskem preparatu smo ugotovili, da so se škrobna zrna v hipertoničnem okolju razporedila v sredini celice.
- Procesi, pri katerih se poveča tkivo, podobno kot pri krompirjevih in jabolčnih koščkih, potekajo v fazi kalitve in rasti rastline.

- Živila, kot so pršut, med in zelje, se ne pokvarijo, saj vsebujejo visoke koncentracije topljenca, ki nase veže vodo, močno zmanjša vodni potencial in tako odvzame vodo bakterijam in glivam, ki bi se sicer razmnožile in pokvarile našteta živila.

2.1.2.2 Poskus 2: Spreminjanje mase krompirjevih koščkov v destilirani vodi

Povzetek

Pri eksperimentalnem delu bodo dijaki postavili raziskovalno vprašanje in določili spremenljivke. Zbirali bodo podatke in jih prikazali v tabeli. Naučili se bodo osnovnih statističnih metod, kot so: računanje srednje vrednosti in standardnega odklona. Narisali bodo tudi histogram z vrisanimi standardnimi odkloni. Interpretirali bodo rezultate in jih primerjati z zbranimi viri.

Trajanje: dve šolski uri.

Povezave z biološkimi koncepti in cilji iz učnega načrta za biologijo:

- B1 - raziskovanje in poskusi

Medpredmetne povezave

Potrebna predznanja drugih predmetov:

- *statistika:* dijaki poznajo osnovne statistične metode, kot so srednja vrednost in standardni odklon
- *fizika:* napake pri meritvah
- *okoljska vzgoja:* dijaki spoznajo ustrezno ravnanje s snovmi in odlaganje snovi

Viri

1 *Devetak, B. (1998). Proučevanje osmoze pri dveh različnih rastlinskih tkivih. Gradivo iz študijske skupine za biologijo. Maribor: Zavod RS za šolstvo.*

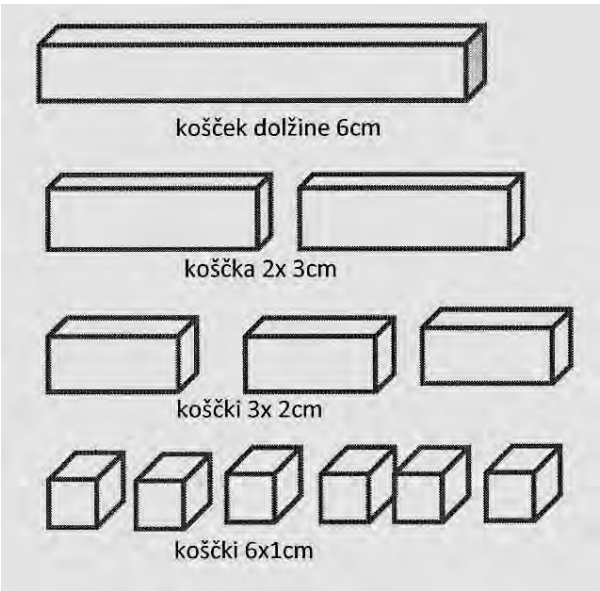
2 *Pickering, W. B. (1996). Biologija – shematski pregledi. Ljubljana: Tehniška založba Slovenije.*

Delovni list 2

Spreminjanje mase krompirjevih koščkov v destilirani vodi

Ugotavljali bomo učinek razmerja med površino in prostornino krompirjevih koščkov na spremembo njihove mase. Pripravo koščkov prikazuje slika 1. Iz krompirja bomo izrezali štiri koščke velikosti 6 x 1 x 1 cm. Prvega bomo stehtali in ga dali v epruveto s 40 ml destilirane vode. Drugega bomo stehtali in ga nato razrezali na dva enaka dela in ju dali v epruveto z destilirano vodo. Tretji košček enake velikosti kot prva dva bomo stehtali in nato razrezali na tri enake dele. Vse tri skupaj bomo potopili v destilirano vodo. Četrti košček bomo stehtali in ga razrezali na šest koščkov in jih skupaj dali v epruveto z destilirano vodo.

Koščke krompirja pustimo v destilirani vodi eno uro. Po eni uri vodo iz epruvet odlijemo, koščke krompirja osušimo s papirnato brisačo in jih ponovno stehtamo.



Slika 1: Krompirjevi koščki različnih velikosti.

Zbiranje in obdelava podatkov

Izdelajte tabelo in vanjo vnesite mase krompirjevih koščkov, preden ste jih prelili z destilirano vodo in po tem, ko so bili eno uro v destilirani vodi. Tabela naj vsebuje podatke vseh skupin dijakov. V tabeli označite odvisno in neodvisno spremenljivko. Napišite naslov tabele, enote in napake pri merjenju. Na podlagi rezultatov napišite zaključke.

a) Definirajte spremenljivke in navedite vsaj dve, ki se med poskusom naj ne bi spreminjali.

b) Podatke prikažite grafično.

c) Izračunajte srednjo vrednost in standardni odklon.

d) Razprava.

Na podlagi rezultatov napišite zaključke. Rezultate primerjajte s podatki iz literature.

Ovrednotite metodo in predlagajte izboljšave metode.

2.1.3 Razgradnja različnih sladkorjev v procesu alkoholnega vrenja

Katja Holnthaner Zorec, II. gimnazija Maribor

Povzetek

Poskus je namenjen raziskovanju poteka in produktov alkoholnega vrenja. Dijaki se naučijo meriti hitrost alkoholnega vrenja, proučujejo primernost različnih substratov za kvasovke in se usmerjajo k samostojnemu načrtovanju eksperimenta. Poskusni organizem so kvasovke v anaerobnem okolju, substrat so raztopine različnih sladkorjev (mono- in disaharidi). Metoda temelji na uporabi opreme Vernier s plinskim tlačnim senzorjem, s katerim merimo spremembe tlaka, nastalega zaradi plina, ki se sprosti med procesom vrenja. Priloženi so tudi delovni listi za dijake.

Trajanje: dve šolski uri.

Povezava z biološkimi koncepti in cilji iz učnega načrta za biologijo

- B – raziskovanje in poskusi (B1-1, B1-2, B1-3, B1-4, B1-5)
- C – zgradba in delovanje celice (C2-7, C2-8)

Medpredmetne povezave

- *matematika*: obdelava podatkov
- *fizika*: poznavanje pojma tlak, poznavanje delovanja plinskega tlačnega senzorja

Uvodna vsebinska izhodišča

Za uspešno izvedbo vaje morajo dijaki poznati osnovni potek in produkte alkoholnega vrenja. Za razlago rezultatov je potrebno nekaj znanja o kvasovkah, o metabolizmu, ki je povezan z pridobivanjem ATP, encimih, ki so povezani z razgradnjo disaharidov in transportu skozi celično membrano; za obdelavo podatkov pa poznavanje osnov statistike.

Vaja zahteva precej praktičnih spretnosti (obvladovanje veščin laboratorijskega dela, poznavanje uporabe računalniške opreme Vernier), za kakovostno obdelavo podatkov in razlago rezultatov pa je potrebno poglobljeno teoretično znanje, zato predlagam izvedbo vaje v četrtem letniku. Priporočam delitev razreda v dve skupini.

Predstavitev izvedbe

Material

- suspenzija kvasa (10 g/100 mL vode),
- 5-odstotna raztopina saharoze,
- 5-odstotna raztopina laktoze,
- 5-odstotna raztopina fruktoze,
- 5-odstotna raztopina galaktoze,
- jedilno olje,
- vmesnik Vernier, program Logger *Pro*,
- plinski tlačni senzor Vernier,
- 5-odstotna raztopina glukoze,
- 10 epruvet,
- 6 brizg (5 cm^3),
- 600 mL čaša za vodno kopel (37–40°C),
- hladna in topla voda za vzdrževanje temperature vodne kopeli,
- temperaturni senzor Vernier,
- paličica za mešanje suspenzije kvasovk.

Postopek dela s pojasnili

- Dijaki se razdelijo v skupine po tri. Pred začetkom dela naj načrtujejo kontrolni poskus.
- Nato pripravijo vodno kopel (300–400 mL) za vzdrževanje temperature suspenzije kvasovk (37–40°C). Temperaturo vodne kopeli nadzorujejo s temperaturnim senzorjem med celotnim potekom poskusa. Ker sta pri vaji blizu vodna kopel in občutljiva računalniška oprema, dijake opozorimo, naj bodo pri delu previdni.
- Povežejo vmesnik, računalnik in senzor, zaženejo program *Logger Pro*.

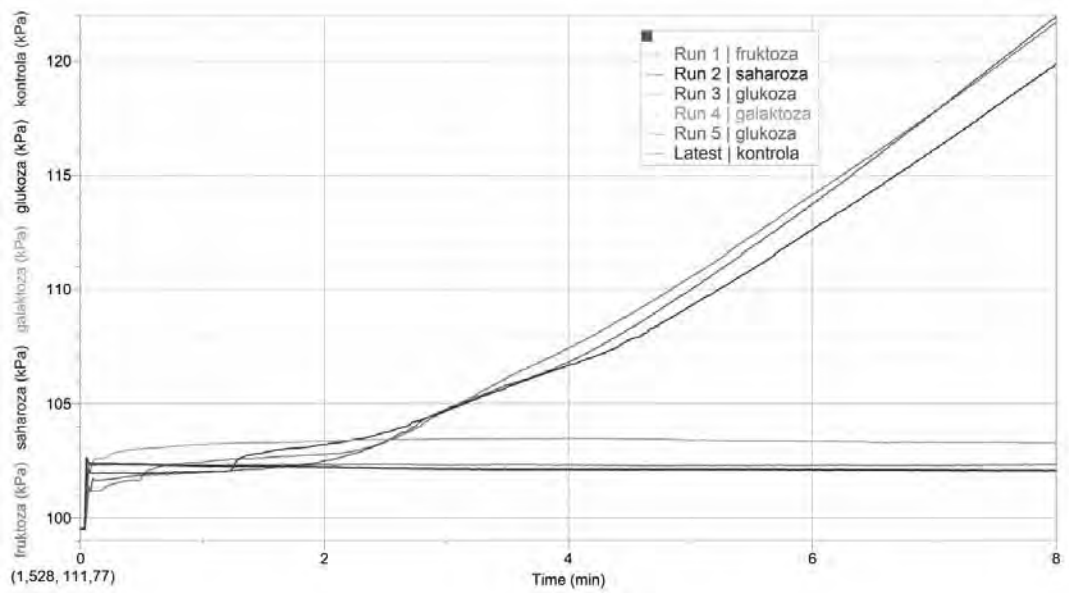
  Kliknejo ikono in prikaže se jim podokno za nastavitev zbiranja podatkov (*Data collection*). Izberejo način (*Mode: Time based*), trajanje meritve (*Duration: 8 minutes*), frekvenco meritev (*30 samples/min*). Če sta na voljo več kot dve šolski uri, lahko čas meritev podaljšamo na 10–15 minut.
- Z brizgo odmerijo 5 mL glukozne raztopine in jo prenesejo v epruveto.
- Z brizgo odmerijo 5 mL suspenzije kvasovk, ki jo pred odvzemom premešajo. Dodajo jo raztopini glukoze in nežno s stresanjem pomešajo.
- Previdno dodajo toliko rastlinskega olja, da popolnoma prekrije mešanico sladkorja in kvasovk. Pazijo naj, da z oljem ne zamažejo ustja epruvete, saj so sicer težave s tesnitvijo zamaška. Olje zagotavlja anaerobne pogoje in preprečuje, da bi pene, ki nastanejo med poskusom, zašle v cevko senzorja.
- Epruveto s prižemo pričvrstijo na stojalo (slika 1, navodila za dijake) in namestijo v vodno kopel. Če prižeme ni na voljo, epruveto naslonijo na rob čaše in pazijo, da se ne premika preveč. Nadzorujejo, da je nivo tekočine v poskusni epruveti pod gladino vodne kopeli.
- Kliknejo gumb

in počakajo 3 s, nato z nežnim pritiskom potisnejo in učvrstijo zamašek s cevko v ustje epruvete. Predvsem pri sladkorjih, ki so za rast in razmnoževanje kvasovk primernejši (primer: saharoza), naj dijaki držijo zamašek, da jim ne skoči iz epruvete. Merjenje se samodejno konča po 8 minutah. Posamezne meritve naj označijo (z miško dvokliknejo na graf in na »glavo« tabele), grafu dodajo naslov. Po vsaki meritvi shranijo podatke (*Store Latest Run*) in nove meritve vnašajo na isti graf.

- Postopek ponovijo še z drugimi raztopinami sladkorja, izvedejo tudi kontrolni poskus.
- Za ponovitve je v dveh šolskih urah premalo časa. Zato si lahko skupine delo razdelijo. Vsaka skupina naredi kontrolni poskus in tri ponovitve z dvema sladkorjema, nato si dijaki izmenjajo podatke.
- Ko končajo zbirati podatke, ugotovijo hitrost alkoholnega vrenja. To lahko storijo na dva načina:
  a) Na grafu si izberejo ustrezno časovno obdobje za zajem podatkov (na primer med drugo in šesto minuto meritve). S puščico na zaslonu kliknejo mesto na ustrezni točki krivulje grafa (v našem primeru druga minuta meritve), nato s pomočjo miške povlečejo puščico do konca krivulje (oz. do šeste minute meritve). Spustijo miško in na grafu se prikaže označeno področje. Izberejo gumb (*Linear fit*) in na zaslonu se prikaže plavajoči okvirček z vrednostjo naklona krivulje (m). To vrednost vzamejo kot hitrost razgradnje (enota kPa/s).
  b) Na dveh ustreznih točkah krivulje (na primer na drugi in šesti minuti meritve) odčitajo vrednost tlaka, izračunajo razliko in preračunajo spremembo tlaka na sekundo (minuto). Hitrost razgradnje izrazijo kot spremembo tlaka v časovni enoti (kPa/s).

Navodila za laboranta

- Že ob pripravi suspenzije kvasovk dodamo toplo vodo in med potekom laboratorijskega dela ves čas nadzorujemo in z vodno kopeljo vzdržujemo konstantno temperaturo suspenzije (37°C). Dijaki si tik pred uporabo v manjše čaše nalijejo suspenzijo kvasovk, ki jo bodo potrebovali za izvedbo poskusa. Pred tem naj suspenzijo dobro premešajo, saj se kvasovke usedajo na dno posode. Mešanje je nujno tudi pred vsakim odvzemom vzorca.
- Brizge dijaki uporabljajo za odmerjanje sladkornih raztopin in suspenzije kvasovk. Epruvete morajo biti nekoliko večje kot standardne, da ustrezajo zamašku, ki je del senzorja.
- Pri pripravi vodne kopeli lahko dijaki uporabijo tudi banjico z enako temperaturo vode, kamor položijo čašo z vodno kopeljo, s čimer zagotovijo počasnejše padanje temperature kopeli. Voda, ki jo dijaki uporabljajo za vzdrževanje temperature vodne kopeli, naj ne bo prevroča, saj lahko ob dodajanju temperatura preveč poskoči, kar se takoj pozna pri rezultatih. Nenadzorovane spremembe temperature lahko povzročijo velike spremembe tlaka. V prostoru, kjer se izvaja vaja, moramo biti pozorni tudi na spremembe zunanjega tlaka (npr. prižig digestorija, kuhinjske nape, ventilacije, treskanje z vrati, nevihta ...),
- Če je na voljo dovolj senzorjev Vernier, je treba uvesti tako imenovano termobaro. To je posoda, ki vsebuje substrat brez kvasovk, potopljena v isto vodno kopel. V njej lahko sproti spremljamo od abiotskih dejavnikov odvisne spremembe tlaka in jih takoj odštejemo od rezultatov.



Graf 1: Primer grafa, ki prikazuje spremembe tlaka pri razgradnji različnih sladkorjev.
Pri ustreznejših substratih (saharoza, glukoza, fruktoza) je naklon krivulje večji. Pri neustreznih substratih (laktoza, galaktoza) sprememb pritiska v epruveti ni.

Obdelava, analiza rezultatov

- Dijaki ugotovijo hitrost razgradnje različnih sladkorjev. Zberejo podatke drugih skupin in izračunajo povprečno hitrost razgradnje posameznih sladkorjev. Če je na voljo več meritev hitrosti razgradnje posameznega sladkorja, je mogoče izračunati tudi standardni odklon. Iz obdelanih podatkov izdelajo graf.
- Na podlagi rezultatov dijaki oblikujejo zaključke, jih utemeljijo z izsledki iz literature, ki so jo našli na to temo. Poiščejo možne vire napak, slabosti, omejitve poskusa, ki zmanjšujejo zanesljivost rezultatov in predlagajo smiselne izboljšave metode.

Metoda je uporabna tudi za druge raziskave, povezane z alkoholnim vrenjem. Dijaki formulirajo raziskovalno vprašanje, postavijo hipotezo, opredelijo spremenljivke.

Doseženo znanje preverimo z poročilom, ki ga dijaki napišejo in v katerem pokažejo sposobnost urejanja in obdelave podatkov (osnove statistične analize), ovrednotenja slabosti in omejitev raziskave, uporabe različnih virov pri razlagi rezultatov in utemeljevanju sklepov ter kritičnega vrednotenja rezultatov.

Gradiva za dijakinje/dijake

Glej prilogo: Navodila za laboratorijsko delo

Refleksija

- Vaja dijakom pomaga pri razumevanju poteka in produktov alkoholnega vrenja in pomena teh procesov za kvasovke.
- Vaja dijakom pomaga pri razumevanju pojmov, povezanih z načrtovanjem in izvedbo poskusa (raziskovalno vprašanje, hipoteza, spremenljivke ...). Analiza in razlaga rezultatov jih spodbuja k povezovanju bioloških znanj (encimi, transport skozi celično membrano, energijski metabolizem ...), k iskanju literature, ki jim bo pomagala razložiti dobljene rezultate, in k vrednotenju same metode dela.
- Dijaki lahko uporabijo metodo za merjenje hitrosti alkoholnega vrenja pri raziskovanju lastnega raziskovalnega problema. Spodbudimo jih pri iskanju problema – raziskovalnega vprašanja, formuliranju hipoteze, k definiranju možnih spremenljivk (namesto vrste sladkorja lahko preučujejo vpliv koncentracije sladkorja, koncentracije alkohola, vrste kvasovk, temperature, pH in drugih dejavnikov na hitrost razgradnje) in načrtovanju poskusa, s katerim bodo preizkusili svojo hipotezo.

Priporočena gradiva za učitelje

1 *Campbell, N. A. et al. (2011). Biology – 9th edition. San Francisco: Benjamin Cummings Publishing Co.*

2 *Masterman, D., Redding, K. (2008). Advanced Biology with Vernier, Experiments for AP and college general biology. Beaverton: Vernier Software and technology.*

Viri

1 *Masterman, D., Redding, K. (2008). Advanced Biology with Vernier, Experiments for AP and college general biology. Beaverton: Vernier Software and technology.*

2 *Vilhar, B. et al. (2008). Učni načrt. Biologija. Gimnazija. (elektronski vir). Dostopno na: http://portal.mss.edus.si/msswww/programi2012/programi/media/pdf/ucni_nacrti/UN_BIOLOGIJA_gimn.pdf (14. 3. 2012).*

Navodila za laboratorijsko delo

Razgradnja različnih sladkorjev v procesu alkoholnega vrenja

Kvasovke lahko uporabljajo kot vir energije le nekatere sladkorje. Sladkorji najprej vstopijo v celico, za kar so potrebne ustrezne prenašalne beljakovine. V celici pa so potrebni ustrezni encimi, ki razcepijo vezi molekul substrata, ki predstavlja kvasovkam hrano.

Številne vrste kvasovk iz rodu *Saccharomyces* so fakultativni anaerobi in lahko uspevajo tudi v odsotnosti kisika. Sladkorje razgradijo v procesu vrenja, kjer nastajata alkohol in ogljikov dioksid.

*Razloži pojem **fakultativni anaerobi**:*

Napiši enačbo alkoholnega vrenja (razgradnja ene molekule glukoze):

Pri vaji boste ugotavljali, ali kvasovke zmorejo razgraditi različne sladkorje. Spremljali boste spremembo tlaka v epruveti, v kateri je suspenzija kvasovk v raztopini določenega sladkorja. Tlak se bo v epruveti spreminjal kot posledica CO_2, ki nastaja z razgradnjo sladkorja v celicah kvasovk med procesom vrenja. Metabolno dejavnost kvasovk boste torej merili s sledenjem spremembi tlaka v epruvetah. Anaerobne razmere so potrebne za to, da kvasovke ne opravljajo celičnega dihanja, kjer bi se kisik porabljal z enako hitrostjo, kot bi nastajal CO_2.

Pri poskusu boste:

- določili hitrost alkoholnega vrenja pri uporabi raztopin različnih sladkorjev, ki so celicam kvasovk vir energije,
- določili, katere sladkorje lahko kvasovke uporabijo kot vir energije.

Raziskovalno vprašanje:

Hipoteza:

Neodvisna spremenljivka:

Odvisna spremenljivka:

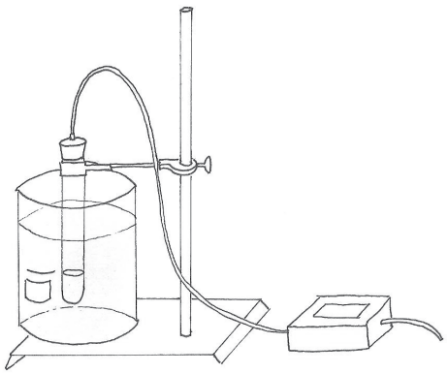
Kontrolirane spremenljivke:

Načrtuj kontrolni poskus:

Material

- suspenzija kvasa (10g/100mL water),
- 5-odstotna raztopina glukoze,
- 5-odstotna raztopina saharoze,
- 5-odstotna raztopina laktoze,
- 5-odstotna raztopina fruktoze,
- 5-odstotna raztopina galaktoze,
- destilirana voda,
- epruvete,
- jedilno olje,
- oprema Vernier, program *Logger Pro*,
- senzor za zračni tlak Vernier,
- 5 cm^3 brizge,
- 600 mL čaša za vodno kopel (37–40°C),
- hladna in topla voda,
- termometer,
- paličica za mešanje.

Postopek

1. Pripravi vodno kopel (300–400 mL) za kvasovke (37–40°C) – temperaturo nadzoruj s temperaturnim senzorjem. Vzdržuj stalno temperaturo vodne kopeli.
2. 

   Slika 1: Naprava za merjenje sprememb tlaka (arhiv avtorice).
3. Poveži vmesnik, računalnik in senzor, vklopi program *Logger Pro*. Nastavi trajanje poskusa na 8 minut (30 meritev/minuto).
4. Z brizgo odmeri 5 mL glukozne raztopine in jo prenesi v epruveto.
5. Z brizgo odmeri 5 mL suspenzije kvasovk, dodaj jo raztopini glukoze in z nežnim stresanjem premešaj.
6. Previdno dodaj toliko rastlinskega olja, da bo popolnoma prekrilo mešanico sladkorja in kvasovk.
   - Epruveto pričvrsti s prižemo na stojalo (slika 1) in jo namesti v vodno kopel, tako da bo nivo tekočine v poskusni epruveti pod gladino vodne kopeli.
   - Klikni »*Collect*« in počakaj 3 s, nato z nežnim pritiskom potisni in učvrsti zamašek s cevko v ustje epruvete.
   - Postopek ponovi še z drugimi raztopinami sladkorjev, izvedi kontrolni poskus, izmenjaj podatke z drugimi skupinami in jih obdelaj.
   - Ko končaš zbirati podatke, določi hitrost razgradnje oz. alkoholnega vrenja.

Obdelava, analiza rezultatov

1. Izdelaj graf, ki bo prikazoval hitrost alkoholnega vrenja pri razgradnji različnih sladkorjev.
2. Na podlagi rezultatov sklepaj, katera vrsta sladkorja je najprimernejši vir energije za kvasovke. V literaturi poišči podatke, ki ti bodo pomagali pri utemeljitvi in razlagi tvojih rezultatov.
3. Poišči možne vire napak, ki zmanjšujejo zanesljivost rezultatov in predlagaj izboljšave.

Vprašanja za razmislek

1. Razmisli, zakaj kvasovke nekaterih sladkorjev niso sposobne razgrajevati.
2. Predvidevaj, kaj bi se zgodilo, če bi namesto svežih kvasovk uporabil prekuhane kvasovke.
3. Sklepaj, kaj bi se zgodilo, če bi namesto 5-odstotne raztopine sladkorjev uporabil 50-odstotno raztopino določenega sladkorja.
4. Sklepaj, kaj bi se zgodilo, če bi namesto 5-odstotne raztopine sladkorjev uporabil 10-odstotno raztopino določenega sladkorja.
5. Naštej nekaj primerov uporabe produktov alkoholnega vrenja v vsakdanjem življenju.
6. Predvidevaj, kateri produkti razgradnje sladkorjev bi nastali, če bi v poskusno mešanico uvajal zrak.
7. Na grafih se meritve včasih ne začnejo pri isti vrednosti tlaka. Navedi možni vzrok.
8. Predvidevaj, kakšna bi bila oblika krivulje, če bi pustil poskus teči 24 ur.
9. Razmisli in utemelji, zakaj bi, če bi poskus pustil teči 24 ur, na dnu epruvete opazil usedlino.
10. Kateri encim izloča kvasovka *Saccharomyces cerevisiae* v okolje, da lahko uporabi saharozo kot vir energije?
11. Nekatere kvasovke, npr. *Kluyveromyces lactis,* izločajo v okolje encim laktazo. Kateri sladkor je lahko zanjo tudi vir energije? Razloži, zakaj.

Viri

1 Limitations on Cell Size: Surface Area to Volume. Biology with Vernier. Dostopno na: http://www.vernier.com/experiments/bwv/12a/respiration_of_sugars_by_yeast/ (15. 12. 2012).

2.1.4 Preučevanje življenjskih procesov

Mag. Katja Stopar, Šolski center Ravne na Koroškem, Gimnazija Ravne

Povzetek

Predstavljeni primer je vezan na poglobljeno obravnavo izbranih ciljev sklopa Zgradba in delovanje celice, Fotosinteza in Celično dihanje v 1. letniku v obsegu petih šolskih ur. Vsebinsko so eksperimenti vezani na proces fotosinteze, in sicer na zgradbo in vlogo fotosinteznih barvil v rastlinah, potek in pomen fotosinteze, povezavo med fotosintezo in celičnim dihanjem pri rastlinah ter odvisnosti živali od rastlin. Dijaki z aktivnim izvajanjem eksperimentalnih del, ki so skrbno načrtovana, razvijajo miselne procese, ustvarjalno in kritično mišljenje. Vloga dijakov pri izvajanju posameznih laboratorijskih del je različna, v nekaterih primerih izvajajo eksperimente po navodilih, v drugih postavljajo hipoteze in predvidijo pričakovane rezultate (tudi v grafični obliki) in eksperimente tudi v celoti načrtujejo. Različni pristopi dijakom omogočijo, da dosežejo zastavljene cilje.

Trajanje

pet šolskih ur (tri ure prvi dan in dve uri drugi dan).

Povezava z biološkimi koncepti in cilji iz učnega načrta za biologijo

Cilji iz obveznega programa učnega načrta, ki so osnova za nadgrajevanje maturitetnega in izbirnega programa:

Splošni cilji:

- razvijanje celostnega razumevanja bioloških konceptov in povezav med njimi na podlagi povezovanja znanja o zgradbi, delovanju, razvoju in soodvisnosti živih sistemov na različnih organizacijskih ravneh, od molekul do biosfere, vključno s povezavo med biosfero in geosfero (*gradnja mreže znanja*);
- spodbujanje ustvarjalnega razmišljanja o kompleksnih bioloških sistemih in problemih ter s tem razvijanje zmožnosti za miselni preskok med različnimi ravnmi in obravnavo problema z različnih zornih kotov, s premikom po mreži znanja bodisi v vertikalni bodisi v horizontalni smeri (*sposobnost kompleksnega razmišljanja*);
- razvijanje sposobnosti za reševanje kompleksnih problemov na podlagi sistematičnega, analitičnega in racionalnega razmišljanja, iskanja informacij iz različnih virov in kritičnega vrednotenja strokovne korektnosti teh informacij in presoje o konsistentnosti dokazov oz. argumentov (*znanstveni način razmišljanja*).

Vsebinski cilji: C2-11, C2-13, M-16 do M-18

Procesni cilji in kompetence: P-1 do P-4 ter P-11 do P-17

Potrebna predznanja

Poznavanje osnovnih bioloških konceptov sklopa Celica, Zgradba in delovanje, Presnova, procesov fotosinteze in celičnega dihanja.

Medpredmetne povezave

- *fizika*: predznanje razumevanja koncepta energije, uporaba IKT (posodobljena oprema za meritve)
- *kemija*: predznanje o kemijskih vezeh, o redukciji in oksidaciji
- *matematika*: razumevanja in uporaba grafičnih zapisov

Uvodna vsebinska izhodišča

Primer izvedbe je vezan na obravnavo posebnih znanj iz učnega načrta za biologijo. Učni načrt za biologijo posebna znanja opredeljuje kot dodatna ali poglobljena znanja v obsegu do 20 odstotkov pouka biologije. Učitelj strokovno avtonomno določi, katere cilje bo bolj poglobljeno obravnaval in vključil ustrezna posebna znanja. Pri tem sta glede na lastne izkušnje zgradba in delovanje celice eno najtežje predstavljivih vsebin v gimnazijskem programu biologije. Razlogov je več, med drugimi nezadostno znanje kemije (biokemije), problem težje predstavljivosti dogajanj v celici kot dogajanj na submikroskopski ravni. S predstavljenimi pristopi dijakom olajšamo prenos znanja o biotskih procesih iz organizacijske ravni celice na raven organizma.

Za predstavljeno obravnavo je nujno poznavanje osnovnih mehanizmov fotosinteze in celičnega dihanja. Kot modelni organizmi so primerne rastline, saj v njihovih celicah potekata oba procesa. S predstavljenim pristopom dijakom osmislimo in nazorneje prikažemo izbrane procese, ki potekajo v celicah. Dijake lahko skozi izvajanje usmerjamo s preprostimi, a smiselnimi vprašanji ali pa jim omogočimo, da sami načrtujejo in zapišejo izvajanje celotnega eksperimenta, navodila za delo pa jim predstavimo pozneje. Tak način izvedbe laboratorijskega dela, kot je predstavljen v nadaljevanju, dijakom omogoči, da razmišljajo ustvarjalno, da sami postavljajo hipoteze, izbirajo ustrezne pripomočke, načrtujejo, pripravijo in izvedejo eksperiment ter ovrednotijo rezultate eksperimenta. Z njimi lahko razpravljamo o pomenu doslednega upoštevanja posameznih stopenj raziskovalnega dela. Tako se dijakinje/dijaki učijo načrtovanja dela, postavljanja hipotez, predstavljanja informacij, vrednotenja in sprejemanja nasprotnih argumentov, dela v skupini itd. Primeri so predstavljeni na delovnih listih. Biološki eksperimenti v tem primeru niso opravljeni samo po navodilih (receptih), ampak dijakinjam/dijakom omogočajo razvijanje procesnih ciljev in kompetenc.

Izvedba

Skupinska izvedba biološkega eksperimenta (v skupinah po štiri ali pet dijakov) v okviru petih šolskih ur (tri ure prvi dan in dve uri drugi dan). Pred izvedbo biološ-

kih eksperimentov je potrebna obravnava osnovnih mehanizmov fotosinteze in celičnega dihanja.

Za vsakega izmed izvedenih eksperimentov so navodila za izvedbo na učnih listih (glej v nadaljevanju). Učne liste je smiselno dijakinjam/dijakom razdeliti šele po uvodni razpravi.

Priloge

Učni listi za dijakinje/dijake z navodili za izvajanje bioloških eksperimentov

Viri in literatura, ki so bili uporabljeni pri izdelavi učnih listov in navodil za izvedbo laboratorijskih del

1 *Breznik, B., Vöröš, S. Bučar Miklavčič, M. (2007). Kaj mora portošnik vedeti o oljčnem olju. Ljubljana: Ministrstvo RS za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano. Direktorat za varno hrano. Dostopno na: http://www.mkgp.gov.si/fileadmin/mkgp.gov.si/pageuploads/URSKA/Publikacije_in_pojasnila/Kaj_mora_potrosnik_vedeti_o_oljcnem_olju.pdf (20. 3. 2011).*

2 *Cell Respiration (CO_2). Vermier Software and Technology. Dostopno na: http://www.vernier.com/experiments/bio-a/5b/cell_respiration_co2/ (22. 3. 2011).*

3 *Cell Respiration (O_2). Vermier Software and Technology. Dostopno na: http://www.vernier.com/experiments/bio-a/5c/cell_respiration_o2/ (22. 3. 2011).*

4 *Chemical characteristics. The olive oil source. Dostopno na: http://www.olive-oilsource.com/page/chemical-characteristics#Pigments (20. 3. 2011).*

5 *Delovanje sončne celice. Sunpower. Dostopno na: http://www.sunpower.si/sl/delovanje-soncne-celice.html (22. 3. 2011).*

6 *Determination of Clorophyll in Olive Oil. Advanced Biology with Vermier. Dostopno na: http://www2.vernier.com/sample_labs/BIO-A-14-COMP-chlorophyll_in_olive_oil.pdf (20. 3. 2011).*

7 *Interdependance of Plants and Animals. Vermier Software and Technology. Dostopno na: http://www.vernier.com/experiments/bwv/14/interdependence_of_plants_and_animals/ (24. 3. 2011).*

8 *Lights and Plants. Technical Information Bulletin. Standard and Wide Spectrum SYLVANIA GRO-LUX®Fluorescent Lamps. Danvers, MA: Sylvania. Dostopno na: http://assets.sylvania.com/assets/documents/FAQ0074-0605.844b0c66-0b11-44c1-b6b5-32218c3e6d08.pdf (20. 3. 2011).*

9 *Pevec, S. (2000). Biologija – Laboratorijsko delo. Ljubljana: DZS.*

10 *Potočnik Vičar, H., Dermastia, M. (2008). Od molekule do celice. Delovni zvezek. Ljubljana: Rokus Klett.*

11 *The Visible Spectra of Plant Pigments. Advanced Biology with Vermier. Dostopno na: http://www2.vernier.com/sample_labs/BIO-A-13-COMP-visible_spectra_of_plant_pigments.pdf (20. 3. 2011).*

12 *Vičar, M. et al. (2008). Učni načrt. Biologija. Gimnazija. Splošna gimnazija. Dostopno na: http://portal.mss.edus.si/msswww/programi2008/programi/media/pdf/ucni_nacrti/UN_BIOLOGIJA_gimn.pdf (20. 3. 2011).*

Učni list 1

Preučevanje življenjskih procesov – uvodna ura

V petih šolskih urah boste z izvajanjem biološkega eksperimenta in vodenim razgovorom odgovorili na vprašanja:

1. Katera barvila so v zelenih delih rastlin?
2. Kaj fotosintezna barvila rastlinam omogočajo?
3. Ali je vrsta in količina fotosinteznih barvil v različnih vrstah rastlin enaka?
4. Kako sta povezana procesa fotosinteze in celičnega dihanja?
5. Zakaj večina heterotrofov ne bi preživela brez rastlin?

V ta namen boste izvedli biološke eksperimente z naslednjimi naslovi:

- Določanje fotosinteznih barvil v zelenih listih
- Absorpcijski spektri fotosinteznih barvil
- Določanje fotosinteznih barvil v različnih vzorcih oljčnega olja
- Ali rastline porabljajo ali sproščajo CO_2 ali morda oboje? (navodila za delo so v delovnem zvezku Od molekule do celice)
- Fotosinteza in dihanje rastlin
- Povezanost biotskih procesov

Teoretične osnove

Fotosinteza

Fotosinteza je kompleksen biokemijski proces, ki poteka v rastlinah, algah in nekaterih bakterijah. Ti avtotrofni organizmi izkoriščajo svetlobo kot vir energije za procese, v katerih tvorijo organske molekule. V teh procesih se svetlobna energija pretvarja v kemično, ki se shrani v molekule glukoze ($C_6H_{12}O_6$). Najpogosteje se v procesu fotosinteze tvori glukoza iz CO_2 in H_2O.

Poenostavljena enačba fotosinteze je

$12H_2O + 6CO_2 + \text{svetloba} \rightarrow C_6H_{12}O_6$ (glukoza) $+ 6O_2 + 6H_2O$

Glukozo rastline uporabijo kot vir energije za delovanje celic ali kot molekulo, iz katere sintetizirajo druge organske spojine (na primer škrob, celulozo, saharozo tudi aminokisline in maščobe ...).

Fotosinteza poteka v dveh zaporednih sklopih biokemijskih reakcij, ki jih imenujemo od svetlobe odvisne reakcije in od svetlobe neodvisne reakcije (Calvinov cikel). V svetlobnih reakcijah nastanejo energetsko bogate snovi, kot so ATP in $NADPH+H^+$, ki se v Calvinovem ciklu porabijo za vezavo CO_2 v sladkor.

Čeprav je od vse sončne energije, ki doseže Zemljo, fotosintezni organizmi izkoristijo le 0,5 odstotka, so od tega majhnega deleža danes neposredno ali posredno odvisna skoraj vsa živa bitja na Zemlji, tako zaradi sinteze organskih snovi kot tudi zaradi sproščenega kisika.

Fotosinteza se je z evolucijo začela razvijati že pred 3,5–4 milijardami let, ko so se pojavile prve avtotrofne bakterije z razvitim fotosistemom II. Ti organizmi so bili podobni današnjim modrozelenim bakterijam. Eden izmed rezultatov njihove fotosinteze pa je bilo tudi sproščanje kisika v atmosfero.

Po ocenah od 40 do 50 odstotkov vse fotosinteze na Zemlji opravi fitoplankton, preostalo pa rastline kopenskih ekosistemov.

Aerobno celično dihanje

Aerobno celično dihanje ali celična respiracija (v nadaljevanju celično dihanje) so procesi oksidacije organskih snovi v celici, pri čemer se sprošča energija, ki je v teh organskih snoveh. Proces je sklop encimskih reakcij v celici, s katerimi ta pridobiva energijo v obliki ATP. Energija, ki se sprošča pri oksidaciji organskih molekul (ogljikovih hidratov, maščobnih kislin), se porablja za procese sinteze energetsko bogatih snovi (ATP). Energija se sprošča v procesih pri odcepljanju vodika od ogljika. Vodikovi elektroni in protoni se vežejo na prenašalno molekulo nikotinamid adenin dinukelotid ($NAD^{+)}$ in se prenesejo v druge reakcije. V kemijskem smislu so ti procesi zaporedje nadzorovanih postopnih oksidacij in redukcij. Končni prejemnik elektronov je molekularni kisik (O_2). Zato lahko tudi rečemo, da je celično dihanje kompleksen proces prenosa elektronov in protonov iz glukoze kot reducenta na končni prejemnik elektronov – oksidanta, ki je v aerobnih razmerah kisik.

Proces celičnega dihanja poteka v vseh živih bitjih, ki za življenje potrebujejo kisik.

Učni list 2

Določanje vsebnosti fotosinteznih barvil v zelenih rastlinah

Uvod

Za potek fotosinteze so pomembna fotosintezna barvila. V rastlinski celici so fotosintezna barvila v kloroplastu v tilakoidnih membranah.

Fotosintezna barvila so organske molekule, ki imajo različno zgradbo in posledično različne fizikalne in kemijske lastnosti. Ob opazovanju formule posamezne molekule lahko ugotovite, ali je molekula polarna ali nepolarna. Zato lahko organske molekule ločimo glede na njihovo polarnost. Torej ugotovimo, kako se topijo v različnih nepolarnih topilih in kako se vežejo na polarne površine. Enega izmed postopkov ločevanja snovi v zmeseh imenujemo tankoplastna kromatografija. S to metodo lahko ločimo zmes različnih molekul glede na njihovo različno afiniteto do nosilca s polarno površino (tanka plast silikagela je pritrjena na trak) in njihove različne topnosti v nepolarni mobilni fazi (organskem topilu). V vašem primeru boste z uporabo tankoplastne kromatografije ločili polarna in nepolarna fotosintezna barvila v zelenih listih. Tako boste ugotovili, katera fotosintezna barvila so v zelenih rastlinah, in spoznali nekatere njihove lastnosti.

Potek dela

1. Da boste lahko ugotovili, katera fotosintezna barvila so v zelenih listih rastlin, izvedite eksperiment z naslovom Fotosintezna barvila v zelenih listih.
2. Rastlinska barvila nimajo zgolj vloge v procesih fotosinteze. Razmislite in v literaturi poiščite, katere vloge bi lahko še imela barvila v rastlini in kako bi to dokazali.
3. Opišite morebitne težave in napake, na katere ste naleteli pri izvajanju svojega eksperimenta, in predlagajte izboljšave.

Komentar za učitelje

Dijaki začnejo izvajati eksperiment, ki jim omogoča določitev fotosinteznih barvil v zelenih listih s tankoplastno in/ali papirno kromatografijo. Navodila so standardna in so bila v preteklosti že večkrat podrobno opisana in objavljena v različnih delovnih zvezkih.

Za uvod v ta eksperiment zastavimo dijakom motivacijska vprašanja. Še učinkoviteje je, če jim pokažemo različno obarvane liste rastlin. Če ta eksperiment izvajam pozimi (pogosto), si pomagamo s fotografijami listov izbrane rastline (zelene barve in jesenskih barv).

Primeri motivacijskih vprašanj ob materialu ali fotografijah:

- *Kaj daje listom zeleno barvo?*
- *Kaj daje barvo listom v jeseni?*
- *Ali so barvila, ki jih lahko opazite na jesenskih listih, v njih že prej? Kako bi to dokazali?*
- *Zakaj ta barvila niso opazna poleti?*
- *Kaj se zgodi s klorofilom v listih listopadnih rastlin jeseni?*

Učni list 3

Ugotavljanje absorpcijskih spektrov fotosinteznih barvil

Uvod

Kako lahko rastline zajamejo/absorbirajo svetlobo in jo izkoristijo pri fotosintezi?

Svetloba je elektromagnetno valovanje. Vidna svetloba je kombinacija več valovnih dolžin v območju med 380 in 750 nm, kar vidimo kot različne barve. Različne valovne dolžine svetlobe predstavljajo fotoni, »delci energije«, z različnimi energijskimi stanji. Molekule, ki rastlinam omogočijo zajem/absorbcijo svetlobne energije in spreminjanje le-te v kemično, so določene molekule barvil, ki so na tilakoidnih membranah znotraj kloroplastov. Z drugimi besedami, barvila absorbirajo fotone. Energija teh fotonov vzbudi nekaj elektronov v molekulah barvil iz njihovih osnovnih in stabilnih energijskih stanj, v višja vzbujena in nestabilna energijska stanja. Te elektrone nato ujamejo sosednje molekule v tilakoidni membrani. Preko njih se postopoma prenesejo v nižja energijska stanja. Tako absorbirana svetlobna energija omogoči nastanek elektrokemijskega gradienta, ta pa nato omogoči nastanek kovalentnih vezi, se torej pretvori v kemično energijo, s pomočjo katere se v Calvinovem ciklu iz reaktantov sintetizirajo končni produkti, na primer molekule glukoze.

Barvila v listih imajo lastnost, da dobro absorbirajo svetlobo določene valovne dolžine, druge valovne dolžine pa slabše absorbirajo in jih prepuščajo. Barva, ki jo vidimo, je kombinacija svetlobe različnih valovnih dolžin, ki jih molekule barvila niso absorbirale. Območje valovnih dolžin, ki jih barvila absorbirajo, predstavimo v obliki absorpcijskega spektra barvila.

Z rezultati tega eksperimenta boste ugotovili, katere valovne dolžine svetlobe najučinkoviteje absorbirajo posamezna fotosintezna barvila.

Potek dela/postopek

Spektrofotometrija

Spektrofotometrija je metoda, ki temelji na merjenju absorpcije svetlobe, ki prehaja skozi preiskovano raztopino. Za merjenje uporabljamo spektrofotometer.

Spektrofotometer je naprava, ki lahko izmeri intenziteto prepuščene svetlobe in količino absorbirane svetlobe.

V spektrofotometru je luč, ki oddaja svetlobo širokega spektra, torej množice valovnih dolžin. Svetloba preide prostor, v katerem je posodica, kiveta, s steno, ki prepušča svetlobo. V kiveti je raztopina izbranega barvila, za katero želimo izmeriti absorbanco. Del svetlobe se na poti skozi kiveto absorbira. Svetlobo, ki preide raztopino, najprej razkloni uklonska mrežica ali prizma (v aparatu »proizvede mavrico«), tako analizirano svetlobo pa zazna poseben senzor, ki je na nasprotni strani kivete. Delež prepuščene svetlobe (transmitanca) je odvisen od absorptivnosti preiskovane snovi pri različnih valovnih dolžinah in od koncentracije preiskovane snovi v raztopini. Transmitanco izražamo kot $T = I/I_0$ (T = transmitanca, I = jakost svetlobe, prepuščene skozi vzorec, I_0 = jakost svetlobe, prepuščene skozi topilo, navadno vodo, brez preiskovanega vzorca). Transmitanca vzorca je tem nižja, čim višja je absorptivnost vzorca. Merilo za intenzivnost absorpcije svetlobe ob prehodu skozi določeno snov z določeno absorptivnostjo je absorbanca, A. Absorbanca in transmitanca sta v razmerju $A = - \log (T)$. Če je transmitanca 100 % (= 1), je absorbanca $A = -\log (1) = 0$, torej vzorec ne absorbira. Če vzorec prepusti desetino svetlobe (T = 0.1), je absorbanca vzorca $A = -\log(0.1) = 1$, in tako naprej (T = 0.01, A = 2; T = 0.001, A = 3).

1. del: Ugotavljanje absorpcijskih spektrov barvil za živila

Najprej si pripravite računalnik. Vključite ga in zaženite program *Logger Pro*. V meniju *Experiment* izberite *Calibrate* in z miško potrdite možnost *Spectrofotometer*. Za ogretje luči počakajte 80 sekund, nato v spektrofotometer vstavite kiveto z destilirano vodo. Bodite pozorni, da jo boste vstavili pravilno (prosojna stran kivete mora biti izpostavljena luči). Po preteku časa za umerjanje s klikom potrdite OK.

Ko je umerjanje spektrofotometra končano, lahko začnete z izvajanjem meritev.

1. V spektrofotometer vstavite kiveto z raztopino (voda, v kateri je raztopljeno rdeče barvilo).
2. Kliknite *Collect* in počakajte, da se izriše ena krivulja. Nato kliknite *Stop*.
3. V zavihku *Experiment* kliknite *Store Latest Run*.
4. Kiveto z raztopino rdečega barvila odstranite iz spektrofotometra.
5. Vstavite kiveto z raztopino modrega barvila.
6. Ponovite postopke/korake od 1 do 3.
7. Kiveto z raztopino modrega barvila odstranite iz spektrofotometra.
8. Vstavite kiveto z raztopino rumenega barvila.
9. Ponovite postopke/korake od 1 do 3.
10. Kiveto z raztopino rumenega barvila odstranite iz spektrofotometra.

Po končanem prvem delu shranite podatke meritev na disk D (Podatki), v mapo BIOLOGIJA EKSPERIMENT. Datoteko poimenujte z oznako vaše skupine in barvo raztopine.

Za določitev absorpcijskih spektrov posameznih fotosinteznih barvil v korenčku izvedite drugi del eksperimenta.

2. del: Ugotavljanje absorpcijskih spektrov barvil v nezelenih delih rastlin

Najprej po navodilih pripravite ekstrakt iz korenčka.

Navodila za pripravo ekstrakta iz korenčka

1. Stehtaj 0,5 g tankih rezin korenčka in jih zmečkajte.
2. Zmečkane rezine korenčka prenesite v 125 ml erlenmajerico. Dodaj 20 ml acetona in erlenmajerico zamašite. Pustite nekaj časa (5 minut).
3. S plastično pipeto prenesite ekstrakt v kiveto. Kiveto napolnite do 1/3, nato dolijte destilirano vodo in jo označite z EK.

Za ugotavljanje absorpcijskih spektrov morate spektrofotometer ponovno umeriti. V meniju *Experiment*, izberite *Calibrate* in z miško potrdite možnost *Spectrofotometer*. Za ogretje luči počakajte 80 sekund, nato v spektrofotometer vstavite kiveto z acetonom in destilirano vodo, v enakem razmerju kot v epruveti EK. Bodite pozorni, da jo boste vstavili pravilno (prosojna stran kivete mora biti izpostavljena luči). Po preteku časa za umerjanje s klikom potrdite OK.

Ko je umerjanje spektrofotometra končano, lahko začnete z izvajanjem postopka.

1. V programu izberite v meniju *File*, zavihek *New*.
2. V spektrofotometer vstavite kiveto z ekstraktom iz korenčka.
3. Kliknite *Collect* in počakajte, da se izriše ena krivulja. Nato kliknite *Stop*.
4. V zavihku *Experiment* kliknite *Store Latest Run*.
5. Kiveto z ekstraktom iz korenčka odstranite iz spektrofotometra.

Po končanem drugem delu shranite podatke na disk D (Podatki), v mapo BIOLOGIJA EKSPERIMENT. Poimenujte jo z oznako vaše skupine in oznako Korenček.

Za določitev absorpcijskih spektrov fotosinteznih barvil v čemažu izvedite tretji del eksperimenta.

3. del: Ugotavljanje absorpcijskih spektrov fotosinteznih barvil v listih čemaža

Najprej po navodilih pripravite ekstrakt iz čemaža.

Navodila za pripravo ekstrakta iz čemaža

1. Stehtajte 0,5 g listov svežega čemaža.
2. Homogenizacija: z uporabo terilnice in pesta homogenizirajte liste, kolikor dobro je mogoče. S plastično pipeto dodajte 20 mL 70-odstotnega izopropanola. Mešanico prenesite v čašo in pustite toliko časa, da nastane usedlina.
3. Nato pripravljeni ekstrakt/mešanico filtrirajte skozi filter papir v čisto čašo.
4. S plastično pipeto prenesite ekstrakt v kiveto in jo označite z EČ.

Ponovno umerite spektrofotometer. V meniju E*xperiment* izberite *Calibrate* in z miško potrdite možnost *Spectrofotometer*. Za ogretje luči počakajte 80 sekund, nato v spektrofotometer vstavite kiveto s 70-odstotnim izopropanolom. Bodite pozorni, da jo boste vstavili pravilno (prosojna stran kivete mora biti izpostavljena luči). Po preteku časa za umerjanje s klikom potrdite OK.

Ko je umerjanje spektrofotometra končano, lahko začnete izvajati postopek.

1. Vstavite kiveto z ekstraktom iz čemaža.
2. Ponovite korake od 1 do 3.
3. Kiveto z ekstraktom iz čemaža odstranite iz spektrofotometra.

Po končanem tretjem delu shranite podatke na disk D (Podatki), v mapo BIOLOGIJA EKSPERIMENT. Poimenujte jo z oznako vaše skupine in oznako Čemaž.

Po opravljenih vseh treh delih eksperimenta natisnite grafe z absorpcijskimi spektri. S pomočjo rezultatov odgovorite na vprašanja.

1. Katera fotosintezna barvila prevladujejo v čemažu? Kako lahko to potrdite? V katerem območju vidne svetlobe (pri katerih valovnih dolžinah) ta barvila najbolje absorbirajo svetlobo?
2. Katera barvila prevladujejo v korenčku? Kako lahko to potrdite? V katerem območju vidne svetlobe (pri katerih valovnih dolžinah) ta barvila najbolje absorbirajo svetlobo?

3. Kako imenujemo barvilo v korenčku? Kakšna je vloga poimenovanega barvila za delovanje naših oči?
4. Glede na zapisana spoznanja ugotovite in utemeljite, pri katerih valovnih dolžinah je fotosinteza najučinkovitejša. Ugotovite, kakšen je akcijski spekter fotosinteze. Primerjajte ga s spektrom svetlobe, ki jo oddajajo žarnice za gojenje rastlin v rastlinjaku (ključne besede za iskanje po spletu: *photosyntesis action spectrum, gro lux spectrum*).
5. Načrtujte in predstavite eksperiment, s katerim bi vaša predvidevanja dokazali.

Prostor za skice:

Komentar za učitelje

Kot motivacijo v ta del laboratorijskega dela lahko vključimo animacijski prikaz delovanja fotovoltaične celice (trajanje 50s). Animacija je dosegljiva na spletni strani: http://www.sunpower.si/sl/delovanje-soncne-celice.html.

Po ogledu animacije dijakinjam/dijakom zastavimo vprašanja:

- *Katere molekule v rastlinski celici opravljajo podobno nalogo kot silicij v fotovoltaični celici?*
- *Kaj se v procesih absorbcije svetlobe v rastlini zgodi z elektroni molekul klorofila?*
- *Ali lahko klorofil absorbira vso razpoložljivo svetlobo? Utemeljite svoj odgovor.*
- *V katerem delu vidnega spektra absorbirajo svetlobo preostala fotosintezna barvila, ki ste jih dokazali pri prejšnjem eksperimentu?*

Dijakinje/dijaki pri izvajanju laboratorijskega dela uporabljajo senzorje in vmesnike ter računalnike.

Pri odgovoru na vprašanje 5 dijakinje/dijaki večinoma sklepajo/ugotovijo, da bi lahko rastline osvetljevali s svetlobo, ki bi jo prepuščali skozi filtre, ki prepuščajo različne barve. Težje jim je ugotoviti, kako bi merili učinkovitost fotosinteze (na primer z merjenjem količine sproščenega kisika pri kopenskih rastlinah z uporabo senzorjev in vmesnikov, z zbiranjem kisika v merilnem valju v določenem časovnem obdobju pri vodnih rastlinah). Oba eksperimenta je smiselno izvesti za potrditev njihovih hipotez.

Učni list 4

Določanje vsebnosti različnih barvil v različnih vzorcih oljčnega olja

Uvod

Oljčno olje je iztisnjeno iz plodu oljke (olive). Glede na vrsto tehnološkega postopka in merila/parametre kakovosti poznamo različna oljčna olja: deviško oljčno olje, rafinirano oljčno olje, mešanica deviškega in rafiniranega oljčnega olja ter olje iz oljčnih tropin. Posebnost deviškega oljčnega olja je v tem, da je olje pridobljeno iz ploda oljke izključno z mehanskimi postopki. Tako pridobljeno olje je deviško, ker ni ne kemijsko ne toplotno obdelano ter ne vsebuje nobenih dodatkov (aditivov).

Barva oljčnega olja je odvisna od vrste in količine barvil v njem. Količina barvil je odvisna od zrelosti plodu, postopka pridelave, tal, v katerih so oljke rasle, podnebnih razmer in postopka pridobivanja olja. Razpon barve olja je od rumene do temnozelene.

Potek dela

Da boste ugotovili, katera barvila so v treh različnih vzorcih oljčnega olja, morate najprej izmeriti njihove absorpcijske spektre.

Navodila za delo s spektrofotometrom

Najprej si pripravite računalnik. Vključite ga in zaženite program *Logger Pro*. V meniju *Experiment* izberite *Calibrate* in z miško potrdite možnost *Spectrophotometer*. Za ogretje luči počakajte 80 sekund, nato v spektrofotometer vstavite kiveto z destilirano vodo. Bodite pozorni, da jo boste vstavili pravilno (prosojna stran kivete mora biti izpostavljena luči). Po preteku časa za umerjanje s klikom potrdite OK.

Ko je umerjanje spektrofotometra končano, lahko začnete postopek.

1. V spektrofotometer vstavite kiveto z vzorcem OT1.
2. Kliknite *Collect* in počakajte, da se izriše ena krivulja. Nato kliknite *Stop*.
3. V zavihku *Experiment* kliknite *Store Latest Run.*
4. Kiveto z vzorcem OT1 odstranite iz spektrofotometra.
5. Vstavite kiveto z vzorcem OT2.
6. Ponovite postopke/korake od 1 do 3.
7. Kiveto z vzorcem OT2 odstranite iz spektrofotometra.
8. Vstavite kiveto z vzorcem OT3.
9. Ponovite postopke/korake od 1 do 3.
10. Kiveto z vzorcem OT3 odstranite iz spektrofotometra.

Po končanem postopku shranite podatke na izmenljivi disk F: mapa BIOLOGIJA EKSPERIMENT. Datoteko poimenujte z oznako vaše skupine in oznako Oljčno olje.

1. Natisnite grafe z absorpcijskimi spektri posameznih vzorcev in jih primerjajte z absorpcijskimi spektri fotosinteznih barvil, ki ste jih določili predhodno v eksperimentu Ugotavljanje absorpcijskih spektrov fotosinteznih barvil.

2. Zapišite vaše ugotovitve (katera barvila so v posameznih vzorcih, kako ste to ugotovili ...)
3. Razmislite, kaj bi lahko sklepali iz izmerjene vrednosti A (na osi Y) narisanih krivulj.
4. Opišite morebitne težave in možne napake, na katere ste naleteli pri izvajanju vašega eksperimenta in predlagajte izboljšave.

Komentar za učitelje

Za uvodno motivacijo dijakom pokažemo fotografijo plodov ali delov rastlin različne barve (na primer zelenega in rdečega paradižnika, zelene, rdeče in rumene paprike, oljke, korenčka). Ob vprašanjih, kot so na primer: Kateri izmed plodov na fotografiji vsebujejo klorofil? Kaj lahko sklepate o vsebnosti posameznih barvil v plodovih glede na njihovo barvo? Zakaj se spreminja barva plodov v času zorenja? Ali so fotosintezni pigmenti, ki jih užijemo z rastlinsko hrano, pomembni tudi za delovanje človeškega telesa?

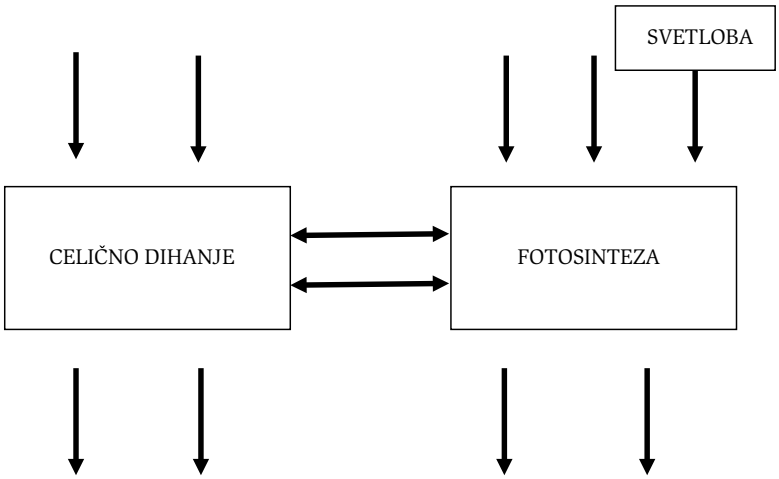
Rezultati tega eksperimenta so odvisni od uporabljenih vrst olivnega olja.

Dijakinje/dijaki praviloma pravilno odgovorijo na tretje vprašanje, torej da vrednost A predstavlja koncentracijo določene snovi v vzorcu.

Učni list 5

Povezanost procesov fotosinteza in celično dihanje

Uvod



Po razpravi v skupini dopolnite shemo tako, da boste vanjo na ustrezna mesta vpisali formule naslednjih molekul: kisika, ogljikovega dioksida, glukoze in vode.

Če menite, da na shemi manjka še kakšna puščica, jo dodajte. Shemo lahko tudi ustrezno preuredite.

Potek dela

1. *Razmislite in odgovorite na naslednji dve vprašanji:*
   - V katere metabolne procese je CO_2 vključen na svetlobi in v katere v temi?
   - Kaj se dogaja v rastlini z O_2 v temi, kaj se dogaja z O_2 na svetlobi?

2. *Na pladnju imate na razpolago naslednji material:*
   - 4 epruvete, 2 foliji, vodno rastlino in indikator za kisline, fenol rdeče.

   Opomba, ki vam bo pomagala pri razumevanju eksperimenta: Fenolrdeče je indikator za kisline. Ob vsebnosti kislin se obarva rumeno. Ob raztapljanju CO_2 v vodi nastaja šibka ogljikova kislina.

   Razmislite in načrtujete, kako bi z danimi pripomočki izvedli eksperiment, ki bi vam potrdil odgovore na vprašanja pri nalogi 1. Načrtovani eksperiment lahko skicirate ali opišete.

   Prostor za skico eksperimenta:

Ko boste končali načrtovanje eksperimenta, primerjajte svoj načrt z opisom eksperimenta v spodnji tabeli.

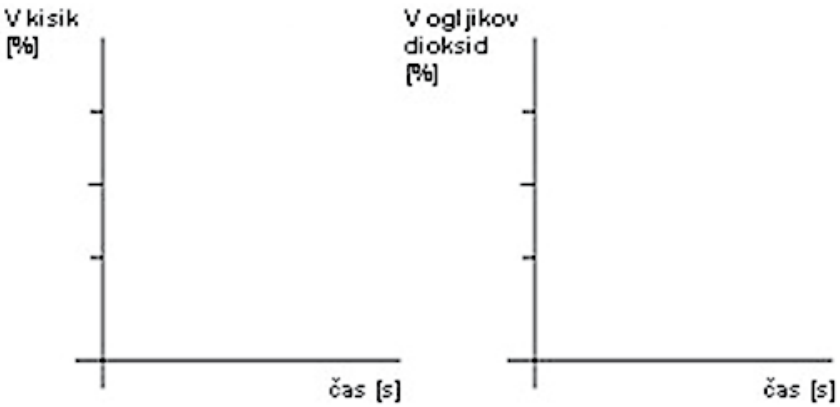
	SVETLOBA	Predvidene spremembe in vzrok	TEMA	Predvidene spremembe in vzrok
Indikator + rastlina	x		x	
Indikator	x		x	

a) Na delovnem listu označite, v čem se razlikuje od vašega načrta izvedbe eksperimenta.

b) V tabelo vpišite spremembe, ki se bodo po vašem mnenju zgodile v epruvetah. Prav tako dopišite vzroke za nastale spremembe.

c) Razložite, zakaj sta v tem primeru potrebna dva kontrolna eksperimenta.

3. *Dijakinje/dijaki, ki boste ugotavljali količino ogljikovega dioksida in kisika v posodi, v katero ste dali kaleča semena, pri katerih je že zrasla korenina in del stebla, v spodnji graf vrišite predvideni potek krivulje za oba plina, ogljikov dioksid in kisik.*



Vaša predvidevanja preverite s spodaj opisanim eksperimentom.

Navodila za ugotavljanje količine kisika in ogljikovega dioksida v posodi s kalečimi semeni

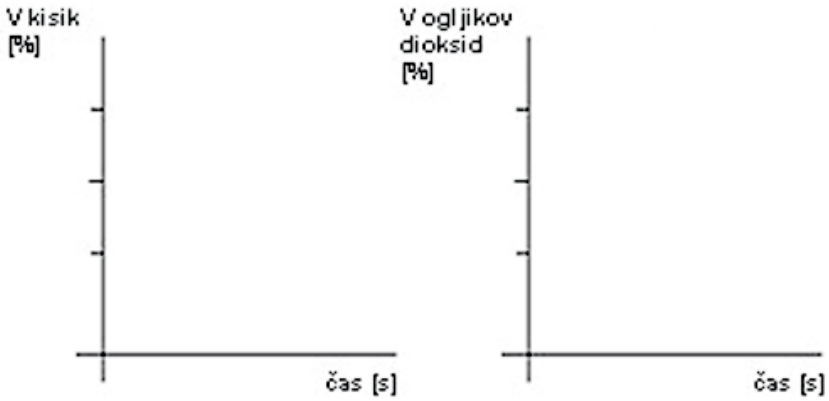
Najprej vključite računalnik in zaženite program *Logger Pro*. Odprite datoteko »*11D Cell Respiration (CO_2 and O_2)*« Senzor za merjenje koncentracije CO_2 povežite z vmesnikom, tega pa z računalnikom (kanal 1). Enako storite s senzorjem za merjenje O_2 (kanal 2).

V litrsko čašo dajte 10 kalečih fižolovih semen, jo prekrijte s folijo in jo zamašite s kartonastim pokrovom, ki ima dve odprtini (odprtini naredite tudi v foliji). V eno izmed odprtin vstavite senzor za merjenje koncentracije CO_2, v drugo pa senzor za merjenje koncentracije O_2 v zraku. Počakajte štiri minute, nato pa začnite zbirati podatke. Kliknite *Collect.* Čas za zbiranje podatkov nastavite na 60 minut. Po šestdesetih minutah v programu *Logger Pro,* v zavihku *Experiment,* kliknite *Store Latest Run.*

Po končanem postopku shranite podatke na izmenljivi disk F: mapa BIOLOGIJA EKSPERIMENT. Datoteko poimenujte z imenom vaše skupine in dodajte zapis Kaleča semena.

Po končanem eksperimentu primerjajte in komentirajte vaše predvidene rezultate z izmerjenimi.

4. *Po opravljenem eksperimentu, opisanem pod točko 3, izvedite eksperiment, v katerem boste ugotavljali količino ogljikovega dioksida ali kisika v zraku v posodi, v katero namestite mlade rastlinice fižola z razvitimi listi. V spodnji graf vrišite predviden potek krivulje meritev za oba plina, torej kisik in ogljikov dioksid.*



Vaša predvidevanja preverite s eksperimentom, ki je opisan spodaj.

Navodila za ugotavljanje količine kisika in ogljikovega dioksida v posodi z mladimi rastlinami fižola

Najprej vključite računalnik in zaženite program *Logger Pro*. Odprite datoteko *»11D Cell Respiration (CO_2 and O_2)«* Senzor za merjenje koncentracije CO_2 povežite z vmesnikom, tega pa z računalnikom (kanal 1). Enako storite s senzorjem za merjenje O_2 (kanal 2).

V čašo dajte 5 mladih rastlin fižola, jo prekrijte s folijo in jo zamašite s kartonastim pokrovom, ki ima dve odprtini (tudi v folijo naredite dve odprtini). V eno izmed odprtin vstavite senzor za merjenje koncentracije CO_2, v drugo pa senzor za merjenje koncentracije O_2. Počakajte štiri minute, nato pa začnite zbirati podatke. V ta namen kliknite *Collect*. Čas za zbiranje podatkov nastavite na 60 minut. Po šestdesetih minutah v programu *Logger Pro*, v zavihku *Experiment,* kliknite *Store Latest Run.*

Po končanem delu shranite podatke na izmenljivi disk F: mapa BIOLOGIJA EKSPERIMENT. Datoteko poimenujte z imenom vaše skupine in dodajte zapis Mlade rastline.

Po končanem eksperimentu primerjajte in komentirajte vaše predvidene rezultate z izmerjenimi.

Komentar za učitelje

Pri tem laboratorijskem delu dijakinje/dijaki za uvodno motivacijo dopolnijo shemo na delovnem listu (delovni list glej v prilogi).

Zaradi racionalizacije časa je eksperiment za dijakinje/dijake lahko vnaprej postavljen in sami izvedejo le meritve. Rezultate vseh treh eksperimentov je smiselno razlagati naslednji dan, ko zberejo tudi rezultate prvega eksperimenta.

Primeri vprašanj za razpravo

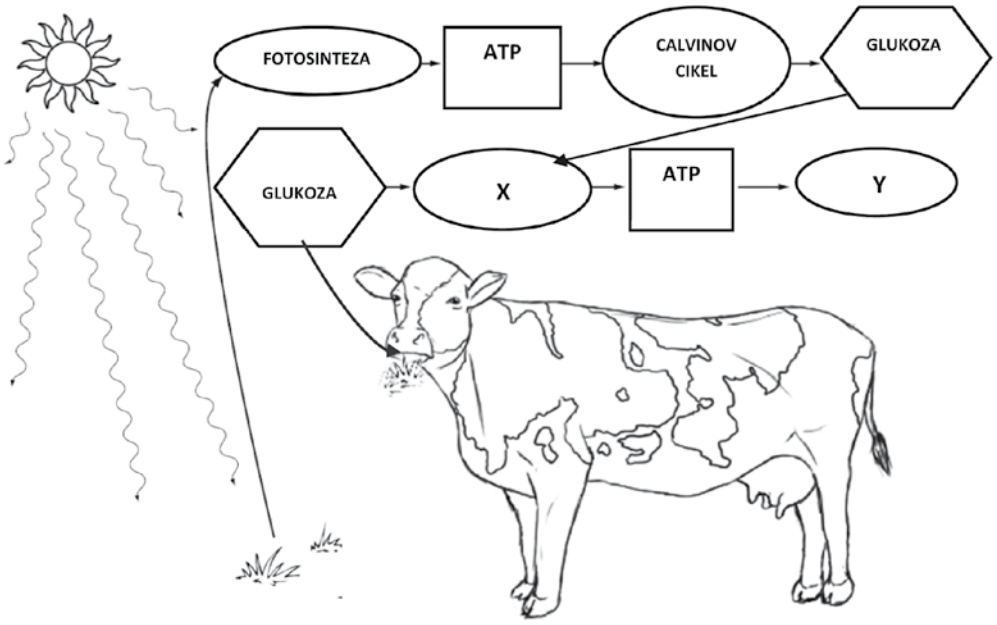
1. *Utemeljite, zakaj se je koncentracija O_2 v čaši s kalečimi semeni zmanjševala.*
2. *Predvidite, kakšni bi bili rezultati meritev koncentracij obeh plinov v čaši z mladimi rastlinami fižola ponoči. Utemeljite svoje predvidevanje.*
3. *Razmislite in pojasnite, kako bi povečali koncentracijo O_2 v čaši z mladimi rastlinami fižola.*
4. *Ali bi se rezultati meritev koncentracij obeh plinov spremenili, če bi rastlinam spodnjo listno povrhnjico premazali z vazelinom? Če domnevate, da bi se spremenili, opišite, kakšno spremembo pričakujete.*
5. *Predvidite, kakšni bi bili rezultati meritev koncentracij obeh plinov v čaši z mladimi rastlinami fižola, če bi rastline osvetljevali z zeleno svetlobo. Zapišite in utemeljite svoje predvidevanje.*

Učni list 6

Povezanost biotskih procesov

Uvod

Z naslednjim eksperimentom boste ugotovili, kako so živa bitja, rastline in živali, medsebojmo odvisna. Za uvod si oglejte spodnjo skico in namesto črk X in Y zapišite ustrezne molekule.



Slika 1: Potek fotosinteze (slika arhiv avtorice)

1. Načrtujte eksperiment, s katerim boste potrdili hipotezo, da so organizmi preko biotskih procesov medsebojno povezani, in s katerim boste spremljali, kako produkti teh procesov vplivajo na pH medija, v katerem živijo. Za izvedbo eksperimenta imate na voljo vodne polže in vodne rastline. Meritve naj potekajo 24 ur. Navodila za izvedbo eksperimenta so zapisana spodaj. Pred izvedbo izpolnite tabelo. Vanjo vpišite predvidene spremembe pH in vzroke za spremembe.
2. V pripravljenem eksperimentu ni kontrolnega eksperimenta, zato načrtujte njegovo izvedbo.
3. Postavite hipotezo, v kateri predvidite, ali se bo sprememba pH v vodi, kjer bosta oba organizma, zgodila. Če domnevate, da bo sprememba pH evidentirana, predvidite, kaj bi spremembo pH lahko povzročilo.
4. V tabelo zapišite predvidene spremembe pH v eksperimentu in komentirajte ter razložite vzrok pričakovanih sprememb.

Št. epruvete	Dodan material in pogoji	Začetna vrednost pH	Pričakovana sprememba pH	Opažena sprememba	Vzrok spremembe pH
1.	polž, na svetlobi				
2.	polž, v temi				
3.	rastlina, na svetlobi				
4.	rastlina, v temi				
5.	rastlina, polž, na svetlobi				
6.	rastlina, polž, v temi				

5. Po končanem eksperimentu primerjajte rezultate, izmerjene v eksperimentu, z vašimi predvidevanji. Razložite in komentirajte ujemanje oziroma neujemanje rezultatov eksperimenta z vašimi predvidevanji.
6. Na sliko v uvodu vpišite ime tiste molekule, ki vpliva na spremembo pH v eksperimentu. S puščicami označite, kje poimenovana molekula nastaja in kje se porablja. Shemo dopolnite z naslednjimi pojmi: *celično dihanje, fotosinteza, glukoza, kisik, voda, ATP, kemijska energija, sončna svetloba*, tako da boste z oznakami razložili pomen teh snovi oziroma biotskih procesov v organizmih, prikazanih na sliki.
7. Opišite morebitne težave in napake, na katere ste naleteli pri izvajanju eksperimenta, in predlagajte izboljšave.

Navodila za ugotavljanje spremembe pH v epruvetah z vodnimi rastlinami in vodnimi polži

Najprej si pripravite računalnik. Vključite ga in zaženite program *Logger Pro* ter pH-senzor priključite na vsakega izmed vmesnikov. Nato pH-senzor odstranite iz raztopine, v kateri je shranjen, in ga splaknite z destilirano vodo. Vstavite ga v epruveto št. 1. Postopek ponovite z drugim senzorjem in ga vstavite v epruveto št. 2. Čas za zbiranje podatkov nastavite na 24 ur, interval zajemanja pa naj bo 15 minut.

Komentar za učitelje

Ta eksperiment dijakinjam/dijakom omogoča povezovanje znanja o procesih na ravni celic s procesi na ravni organizmov in višjih ravneh organizacije v naravi (ekosistemov in biosfere). Omogoča jim razumevanje soodvisnosti živih bitij prek povezanosti njihovih biotskih procesov.

Dijakinje/dijaki za uvodno motivacijo dopolnijo shemo na delovnem listu.

Meritve izvajajo v treh skupinah. Vsaka skupina ima dva vmesnika s pH-senzorji in računalnik, kar pomeni, da vsaka skupina izvede meritve v dveh epruvetah. Ker so spremembe pH ob uporabi enega polža zelo majhne, je smiselno v eksperimentu uporabili tri polže naenkrat. Razlike so v tem primeru nekoliko povečane.

Načinov izvedbe tega eksperimenta je več. Dijakinje/dijake lahko pred začetkom meritev vprašamo, kako bodo za epruvete, ki so na svetlobi, zagotovili 24 ur svetlobe. Še bolje je, če jih na to ne spomnite, saj bodo iz oblike krivulje morali ugotoviti, kdaj se je začela tema. Rezultate tega eksperimenta lahko primerjajo z rezultati eksperimenta na Učnem listu 5 (epruvete z indikatorjem fenol rdeče in z rastlinami). Prav tako so rezultati eksperimenta lahko iztočnica za pogovor o kroženju ogljika na Zemlji, energetskih izgubah pri prenosu energije po prehranjevalni verigi/trofičnih nivojih.

2.1.5 Obravnava sinteze beljakovin z uporabo analogije in spletnih orodij

Dr. Alenka Gorjan, SŠFKZ, Ljubljana

Povzetek

Sinteza beljakovin je zaradi svoje zapletenosti veliko dijakom težko razumljiva. Za lažje razumevanje lahko sintezo beljakovin opišemo tudi malce drugače – s pomočjo asociacije iz vsakdanjega življenja. Tako lahko zelo poenostavljeno zapise na molekuli DNA primerjamo s kuharskimi recepti, samo izdelavo sladice pa z izdelavo beljakovin. Predstavitvi analogije sledi uporaba orodij bioinformatike. Uporaba računalnika dijakom snov še bolj približa, pridobljeno znanje pa lahko tudi praktično uporabijo. Dijaki s pomočjo spletnih orodij in podatkovnih zbirk prevedejo nukleotidni zapis v aminokislinskega in določijo tridimenzionalno zgradbo beljakovine z dobljenim aminokislinskim zaporedjem. V podatkovnih zbirkah poiščejo, kakšno vlogo ima ta protein v celicah in organizmih. V zadnjem delu je podan primer vprašanj za preverjanje usvojenega znanja.

Trajanje izvedbe: dve šolski uri

Pouk se drugo šolsko uro izvaja v računalniški učilnici oziroma s pomočjo prenosnih računalnikov za dijake.

Povezava z biološkimi koncepti in cilji iz učnega načrta za biologijo

- C – Zgradba in delovanje celice (C3-5, 6, 7)

Najpogostejše napačne predstave ter stereotipi dijakov

Dijaki si pogosto predstavljajo, da je vloga molekule DNA le prenašanje zapisov za dedne lastnosti s staršev na potomce. (Zato je treba poudariti, da so molekule DNA izredno pomembne tudi v času, ko celica raste, se razvija, in pozneje, ko celica opravlja življenjske funkcije, saj so nosilke informacij za izdelavo beljakovin – beljakovine pa so molekularni strojčki, ki v celicah opravljajo različne naloge.)

Medpredmetne povezave

- *kemija:* kemijske vezi, zgradba organskih molekul
- *informacijsko-komunikacijska tehnologija*

Uvodna vsebinska izhodišča

Dijaki na podlagi predznanja o organskih molekulah in s pomočjo asociacije iz vsakdanjega življenja (tj. priprava sladice po kuharskem receptu) lažje razumejo vlogo molekule DNA, molekul RNA (mRNA, rRNA, tRNA) ter samo sintezo pro-

teinov. Razumejo pojme homologni kromosomi, transkripcija in translacija. S pomočjo orodij bioinformatike sami postanejo »prevajalci« genskega koda in določijo tridimenzionalno zgradbo proteina.

Dijakom se lahko asociacijo predstavi tudi ob drugih dejavnostih med poukom (npr. ob vaji izdelave modela DNA) pri razlagi vloge DNA in sinteze proteinov.

Predstavitev izvedbe

Uvodoma lahko dijakom zastavimo nekaj motivacijskih vprašanj: *Kako bi se doma lotili priprave neke sladice, npr. ledene torte? Kaj potrebujete za samo izdelavo? Kako jo izdelate?*

Skupaj z učiteljem oblikujejo kratek postopek/protokol izdelave enostavne ledene torte in ga zapišejo na tablo, na primer:

1. Poiščem recept, ga prepišem, da knjige ne poškodujem, in ga odnesem v kuhinjo na mizo.
2. Pripravim sestavine (piškote, smetano – stepem z mešalnikom, sladoled ...), pripomočke (kuhalnica, mešalnik, pekač, lopatka).
3. V pekač naložim plasti torte v zaporedju, ki ga določa recept.
4. Torto položim v zmrzovalnik, da dobi dokončno obliko.

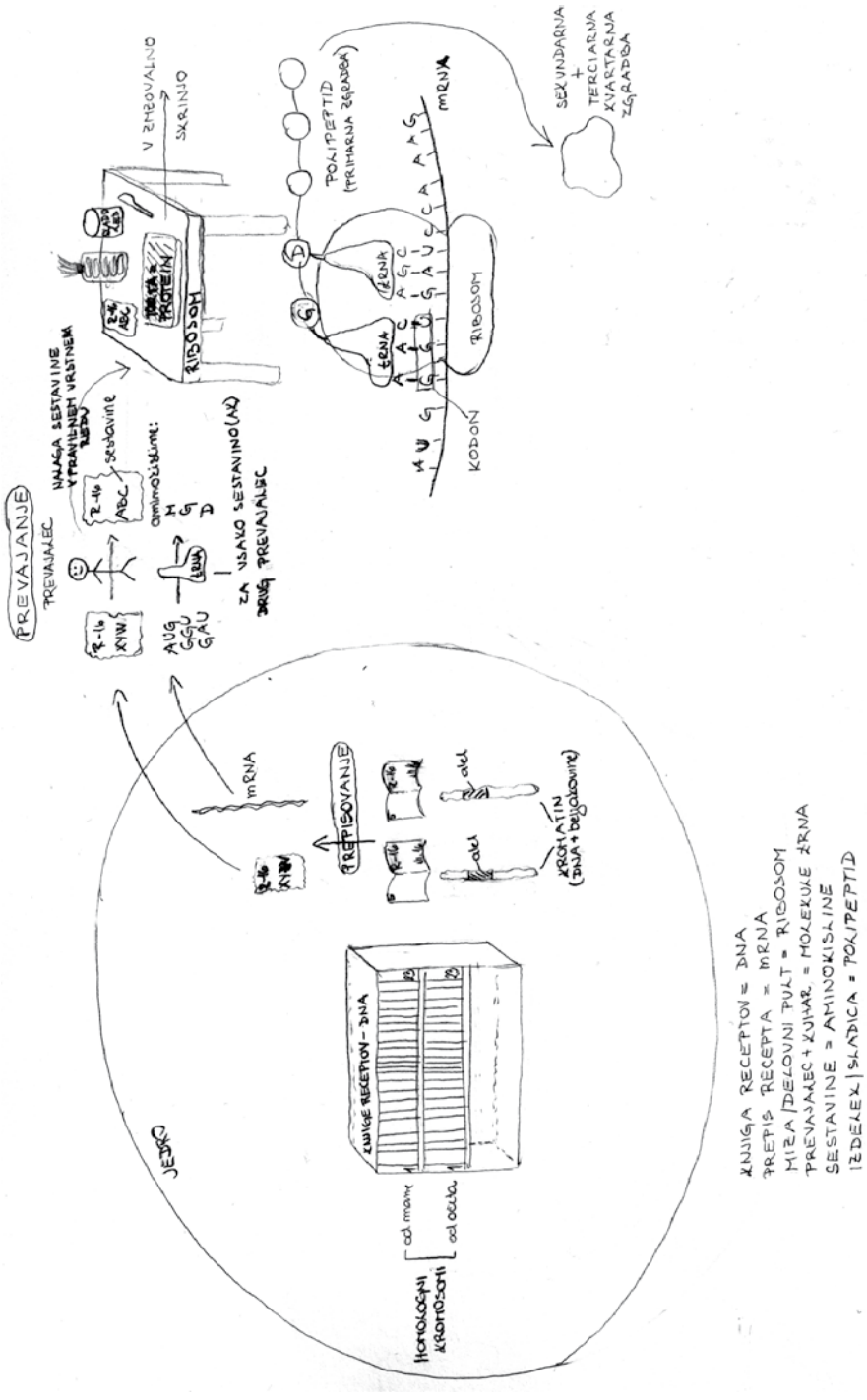
Načrtovano dejavnost dijaki skicirajo v zvezek. Za lažjo primerjavo z DNA v naših celicah se dogovorimo, da imamo kuharice v knjižni omari v dnevni sobi, in sicer 23 knjig maminih receptov in 23 knjig očetovih receptov.

Slika 1: Primer skice izdelave ledene torte (slika: Alenka Gorjan)

1 Teoretični del

S pomočjo prispodobe predstavimo zapletene procese, ki potekajo v celici, in povemo, da podobna izdelava poteka tudi v naših celicah, le da so sladice, ki se pripravljajo, pravzaprav *proteini*, recepti pa dedni zapisi oziroma *zaporedja nukleotidov molekule DNA*. Ob razlagi s pomočjo primerjave s sliko sinteze proteinov iz učbenika (lahko katera koli slika sinteze proteinov) dopolnimo skico izdelave ledene torte z analogijami iz sveta celic (slika 2).

Če vzamemo v roko 5. knjigo maminih receptov in 5. knjigo očetovih receptov, ugotovimo, da imata obe knjigi recepte za iste jedi. Mama ima npr. na strani 23 v 5. knjigi recept za jabolčno pito, prav tako oče. Oba recepta se sicer v malenkostih razlikujeta, vendar sta jabolčni piti, ko ju izdelamo po katerem koli receptu, zelo dobri. Če je recept v eni izmed knjig neberljiv, lahko še vedno sestavimo uporaben recept. Dedovanje dvojnih zapisov namreč predstavlja prenos informacij z varnostnimi kopijami, ki so vselej pri roki in nas rešujejo, ko je del informacije pokvarjen.



Slika 2: Kaj ima skupnega izdelava ledene torte s sintezo beljakovin (slika: Alenka Gorjan)

Dijaki navadno sami povežejo knjige receptov s *homolognimi kromosomi* v naših celicah. Zapisi receptov na homolognih kromosomih so pravzaprav zapisi »receptov« za beljakovine, ki jih celica potrebuje. Ti zapisi so tako za celico življenjskega pomena. Ker bi se lahko med prenosom iz jedra okvarili/poškodovali, ostanejo zaščiteni v jedru (v našem primeru dnevni sobi).

Zato se v jedru pripravijo prepisi »receptov«, ki jih celica v trenutnih razmerah potrebuje, v obliki molekul obveščevalne RNA (*mRNA*). Procesu pravimo *transkripcija* (prepisovanje). Tako prepisan recept se razlikuje od zapisa v kuharski knjigi: mi smo ga prepisali na roko, v kuharski knjigi pa je natisnjen. Vendar je vsebina v obeh primerih enaka.

Dijaki ponovijo, v čem se razlikujeta zapisa molekule DNA in mRNA.

Tako kot dijaki prenesejo prepis recepta iz dnevne sobe v kuhinjo in ga položijo na mizo, da bodo lahko izdelali sladico, v celici molekula mRNA »potuje« od DNA (pri evkariontih iz jedra) in se veže na *ribosome* (v prispodobi »mize« v kuhinji)**,** *kjer bo potekala* izdelava proteinov. Ti so zgrajeni iz strukturnih ribosomskih beljakovin in ribosomske RNA (*rRNA*).

Da smo lahko izdelali ledeno torto, smo morali recept prebrati, po vrsti, kot je bilo v njem zapisano, prinašati in uporabiti sestavine na mizo v kuhinji ter jih naložiti drugo na drugo v pravilnem vrstnem redu. V celici se to dogaja na ribosomih – recept/ molekulo mRNA prebirajo molekule tRNA (prenašalne molekule RNA) ki do ribosomov prinašajo *aminokisline (sestavine), iz katerih so beljakovine zgrajene.* Proces imenujemo *translacija* (prevajanje).

Na sliki iz učbenika (ali na animaciji), projicirani na tablo, dijaki pogledajo, kako molekule tRNA »berejo« molekulo mRNA in prinašajo ustrezne aminokisline, ki se povežejo med seboj *v polipeptidno verigo* (primarna zgradba proteina). Za lažjo predstavo si lahko ogledajo tudi katerega od filmov na spletni strani *www.youtube.com* (npr. Transcription and Translation ipd.)

Razložimo pojem *kodon* kot zaporedje treh nukleotidov. Tega prepozna molekula tRNA, ki s seboj prinaša točno določeno aminokislino. Zaporedje treh nukleotidov na molekuli tRNA torej določa, katera aminokislina se veže na molekulo tRNA = katero sestavino bo ta molekula tRNA prinesla na ribosom in jo dodala k polipeptidni verigi. Pogledamo, kateri kodoni ustrezajo posameznim aminokislinam – ogledamo si genski kod, ki ga imajo dijaki pred seboj v navodilih za izvedbo postopkov/praktični del. Dijaki pogledajo, pri katerih kodonih se prevajanje začne in pri katerih se ustavi. Razmislijo, zakaj več različnih kodonov kodira isto aminokislino in ali ima takšno kodiranje kakšno prednost.

Ko se sintetizira polipeptidna veriga, se zvije v ustrezno *tridimenzionalno strukturo* (dijaki ponovijo zgradbe beljakovin). Našo torto oblikujeta kar posoda in mraz v hladilniku, za dokončno obliko proteinov pa so potrebni posebni proteini, imenovani šaperoni, ki na novo sintetizirane verige zvijejo v ustrezno tridimenzionalno strukturo. Ustrezna tridimenzionalna zgradba je pomembna za delovanje beljakovin.

2 Izvedba

Za praktični del dobijo dijaki navodila v elektronski obliki na razredni e-naslov, v spletno učilnico ali v kakšni drugi elektronski obliki. Navodila si prenesejo na svoj računalnik. Če se prvič srečujejo s takšnim načinom dela (uporabo orodij bioinformatike), jih skozi delo vodi učitelj. Primer navodil je predstavljen v prilogi A, v nadaljevanju so predstavljene tudi rešitve.

Pri praktičnem delu uporabljajo dijaki spletna orodja, ki jih uporabljajo tudi raziskovalci v znanosti pri svojem delu. Povezave do teh spletnih orodjih so izbrane na portalu orodij bioinformatike *ExPASy (http://www.expasy.org/)*. Na portalu so zbrane tudi povezave do mnogih podatkovnih zbirk, v katerih so objavljeni rezultati raziskav (npr. ekperimentalni modeli proteinov, rezultati raziskav s tehniko NMR, z mikročipi ipd.). Orodja in zbirke so razporejene po področjih (proteomika, genomika, strukturna bioinformatika, sistemska biologija ...) na levi strani spletne strani. V okviru vsakega področja so zbrane povezave orodij in zbirk, ki jih uporabljajo raziskovalci navedenega področja. Navedenih je lahko tudi več orodij z isto funkcijo (npr. za primerjavo zaporedij). Vsako orodje ima namreč svoje prednosti in pomanjkljivosti. Raziskovalci izberejo orodje, ki ustreza njihovim zahtevam.

Tako lahko z nekaterimi orodji npr. prevedemo nukleotidno zaporedje v aminokislinsko (npr. *Translate tool*), to zaporedje primerjamo z drugimi nukleotidnimi zaporedji (npr. *orodje ClustalW*), poiščemo modele in eksperimentalno določene tridimenzionalne strukture zaporedij, podobnih našemu (npr. *Protein Model Portal*), poiščemo funkcionalne domene našega proteina *(Prosite)*, primerjamo vzorce izražanja genov *(Bgee)*, lahko celo preučujemo naravno selekcijo *(BayeScan)* in še veliko več.

Delovni list 1 – rešitev

Ugotavljanje tridimenzionalne strukture proteina na podlagi nukleotidnega zapisa molekule DNA

Spodaj sta prikazana nukleotidni zapis molekule DNA za sintezo enega od celičnih proteinov ter preglednica aminokislin in njihovih kodonov.

Nukleotidni zapis:

ATGGGTGATGTTGAGAAAGGCAAGAAGATTTTTATTATGAAGTGTTCCCAGTGCCACACC
GTTGAAAAGGGAGGCAAGCACAAGACTGGGCCAAATCTCCATGGTCTCTTTGGGCGGAAG
ACAGGTCAGGCCCCTGGATACTCTTACACAGCCGCCAATAAGAACAAAGGCATCATCTGG
GGAGAGGATACACTGATGGAGTATTTGGAGAATCCCAAGAAGTACATCCCTGGAACAAAA
ATGATCTTTGTCGGCATTAAGAAGAAGGAAGAAAGGGCAGACTTAATAGCTTATCTCAAA
AAAGCTACTAATGAGTAA

Tabela genskega koda – aminokisline in njihovi kodoni

Prvi nukleotid v mRNA	Drugi nukleotid v mRNA: U	C	A	G	Tretji nukleotid v mRNA
U	**UUU** – Phe (F) **UUC** – Phe (F) **UUA** – Leu (L) **UUG** – Leu (L)	**UCU** – Ser (S) **UCC** – Ser (S) **UCA** – Ser (S) **UCG** – Ser (S)	**UAU** – Tyr (Y) **UAC** – Tyr (Y) **UAA – stop** **UAG – stop**	**UGU** – Cys (C) **UGC** – Cys (C) **UGA – stop** **UGG** – Trp (W)	**U** **C** **A** **G**
C	**CUU** – Leu (L) **CUC** – Leu (L) **CUA** – Leu (L) **CUG** – Leu (L)	**CCU** – Pro (P) **CCC** – Pro (P) **CCA** – Pro (P) **CCG** – Pro (P)	**CAU** – His (H) **CAC** – His (H) **CAA** – Gln (Q) **CAG** – Gln (Q)	**CGU** – Arg (R) **CGC** – Arg (R) **CGA** – Arg (R) **CGG** – Arg (R)	**U** **C** **A** **G**
A	**AUU** – Ile (I) **AUC** – Ile (I) **AUA** - Ile (I) **AUG** – Met (M) **start**	**ACU** – Thr (T) **ACC** – Thr (T) **ACA** – Thr (T) **ACG** – Thr (T)	**AAU** – Asn (N) **AAC** – Asn (N) **AAA** – Lys (K) **AAG** – Lys (K)	**AGU** – Ser **AGC** – Ser **AGA** – Arg **AGG** – Arg	**U** **C** **A** **G**
G	**GUU** – Val (V) **GUC** – Val (V) **GUA** – Val (V) **GUG** – Val (V)	**GCU** – Ala (A) **GCC** – Ala (A) **GCA** – Ala (A) **GCG** – Ala (A)	**GAU** – Asp (D) **GAC** – Asp (D) **GAA** – Glu (E) **GAG** – Glu (E)	**GGU** – Gly (G) **GGC** – Gly (G) **GGA** – Gly (G) **GGG** – Gly (G)	**U** **C** **A** **G**

Okrajšave aminokislin:

A – Ala – alanin
C – Cys – cistein
D – Asp – aspartat
E – Glu – glutaminska kislina
F – Phe – fenilalanin
G – Gly – glicin
H – His – histidin
I – Ile – izolevcin
K – Lys – lizin
L – Leu – levcin
M – Met – metionin
N – Asn – asparagin
P – Pro – prolin
Q – Gln – glutamin
R – Arg – arginin
S – Ser – serin
T – Thr – treonin
V – Val – valin
W – Trp – triptofan
Y – Tyr – tirozin

1. *Prvim tridesetim nukleotidom določi* komplementarno zaporedje nukleotidov *(zaporedje druge verige DNA) in dobljeno zaporedje prevedi v* zaporedje molekule mRNA. *S pomočjo tabele, ki prikazuje genski kod (zgoraj), prevedi zaporedje molekule mRNA v* zaporedje aminokislin. *Zaporedja med seboj primerjaj.*

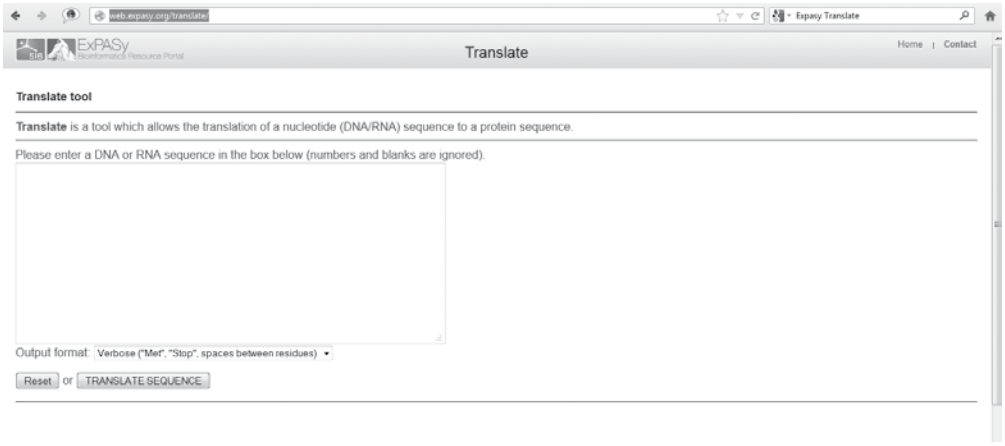
   Da dijaki lažje prevajajo zaporedje, tabelo genskega koda projiciramo na tablo. Preden začnejo zaporedje prevajati, še enkrat pogledamo tabelo in dijake opozorimo na začetne in končne kodone, ki označujejo začetek in konec prepisovanja. Opazijo, da začetek prepisovanja ni tako očiten, saj isto zaporedje treh nukleotidov (AUG) lahko določa tudi aminokislino metionin, medtem ko so zaporedja za konec prepisovanja točno določena. Pri prevajanju označujejo kodon AUG kot aminokislino metionin (pred seboj imajo namreč le del zaporedja, ki kodira aminokisline).

   Rešitev:

   ATGGGTGATGTTGAGAAAGGCAAGAAGATT - DNA – 1. veriga
   TACCCACTACAACTCTTTCCGTTCTTCTAA - DNA – 2. veriga (komplementarna)
   AUGGGUGAUGUUGAGAAAGGCAAGAAGAUU - mRNA
   MGDVEKGKKI – aminokislinsko zaporedje

2. *S pomočjo spletnega orodja ExPASy Translate* (*http://web.expasy.org/translate/*) prevedi celotno zgornjo nukleotidno zaporedje v zaporedje aminokislin. *V prazno polje kopiraj svoje zaporedje, nastavi Output format na »Compact« in pritisni na gumb »Translate sequence«. Zapis zaporedja skopiraj spodaj:*

   Dijaki odprejo spletno stran:



   V prazno polje skopirajo zaporedje. Dijake opozorimo na nastavitev »*Output format*«. Mogoče so tri nastavitve:

   - *Verbose* (»*Met*«, »*Stop*«, spaces between residues) – tu računalnik prepozna možne start (*Met*) in stop kodone in jih označi z »*Met*« in »*Stop*«;
   - *Compact* (»*M*«, »-«, no spaces) – tu je prevedeno zaporedje predstavljeno brez presledkov, sekvenca, ki kodira metionin ali začetni kodon, se označi z »*M*«, sekvenca, ki predstavlja končni kodon pa »-«.
   - *Includes nucleotide sequence* – pri tej nastavitvi računalnik vzporedi nukleotidno in aminokislinko zaporedje.

   Dijaki naj si za nadaljnje delo shranijo sekvenco nastavitve »*Compact*«.

Rešitev:

MGDVEKGKKIFIMKCSQCHTVEKGGKHKTGPNLHGLFGRKTGQAPGYSYTAANKNKGIIW
GEDTLMEYLENPKKYIPGTKMIFVGIKKKEERADLIAYLKKATNE

Dijaki za domačo nalogo izpišejo prvih 20 aminokislin s celotno besedo – pomen okrajšav imajo predstavljen pod tabelo genskega koda.

Razmisli, zakaj program iz enega nukleotidnega zaporedja poišče kar šest možnosti za aminokislinsko zaporedje?

Dijaki svoja razmišljanja predstavijo sošolcem in z učiteljem prediskutirajo o pravilnosti svojih domnev. Če potrebujejo pomoč, jim učitelj namigne, da je pri branju zaporedij zelo pomembno, kje se to zaporedje začne in katera od obeh verig DNA nosi pravi zapis. Tako skupaj ugotovijo, da računalnik upošteva vseh šest možnosti:

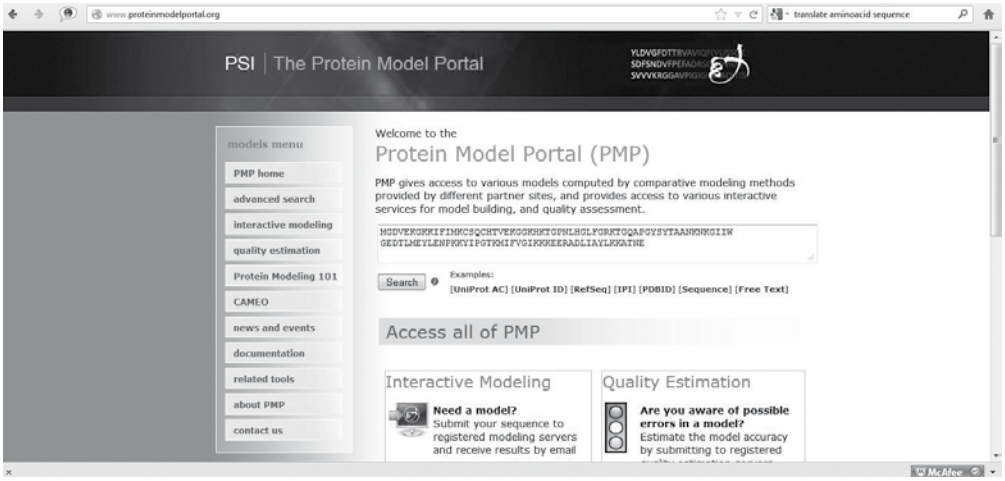
a) da je zapis, ki smo mu ga posredovali, kodirajoči (nosi »recept«) – tu ima tri možnosti – začne »brati« pri prvem nukleotidu (prvi trije nukleotidi = ena aminokislina, druga trojica = druga aminokislina itn.), nato pri drugem nukleotidu, tretja možnost pa je začetek t. i. bralnega okvirja pri tretjem nukleotidu (če začne brati pri četrtem nukleotidu, dobi enako zaporedje kot pri prvem, le da izgubi prvo aminokislino, zato tega postopka ne nadaljuje).

b) Naslednje tri možnosti vključujejo zapis na komplementarni verigi, ki ga računalnik prevede tako kot zgornjega (najprej od prvega nukleotida dalje, nato od drugega nukleotida in nazadnje še od tretjega nukleotida dalje).

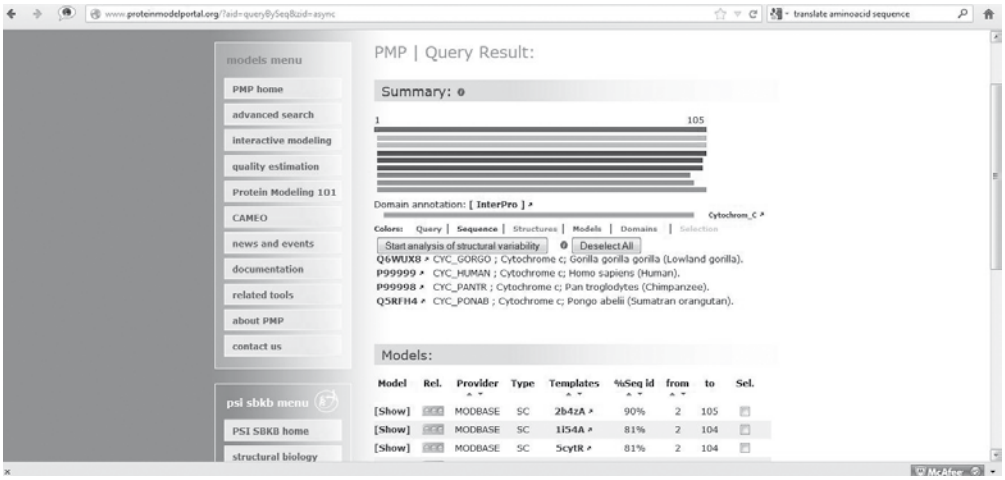
Dijakom razložimo praktično uporabo takšnega dekodirnega sistema. Raziskovalci namreč pogosto iz celice izolirajo košček molekule DNA, ki nosi neki nukleotidni zapis. Ta nukleotidni zapis določijo s posebnimi tehnikami, vendar ne vedo, katera veriga je kodirajoča. Zato dobljeni zapis vstavijo v prevajalni program, ki zapis prevede v vseh šest oblik. Dobljene zapise lahko s programi bioinformatike prevedejo v aminokislinska zaporedja. Tako dobljena zaporedja primerjajo z aminokislinskimi zaporedji že znanih proteinov (tako pri človeku kot pri drugih organizmih) in ugotovijo, kateri zapis je najbolj »smiseln« – kodira neki celični protein. Ti računalniški programi nam izračunajo tudi odstotek podobnosti zaporedja z zaporedji drugih proteinov. Na podlagi odstotka podobnosti lahko izrišejo tudi kladogram. Zbir takšnih programov lahko najdemo na portalu orodij bioinformatike Exspasy (*http://www.expasy.org/*). Dijaki pri vaji spoznajo le dve orodji. Doma lahko malce raziščejo, kaj vse jim ta portal oziroma programi na portalu omogočajo.

3. *Na spletni strani ExPASy portala orodij bioinformatike (http://www.expasy.org/) poišči knjižnico za ugotavljanje tridimenzinalne zgradbe proteinov (zavihek Structural bioinformatics → Protein Model Portal). Na podlagi aminokislinskega zaporedja našega proteina iz prejšnje naloge* poišči prikaz tridimenzionalne strukture svojega proteina *in si oglej animacijo strukture (datoteka Jmol). Klikni na model in ga obračaj po svoji izbiri.*

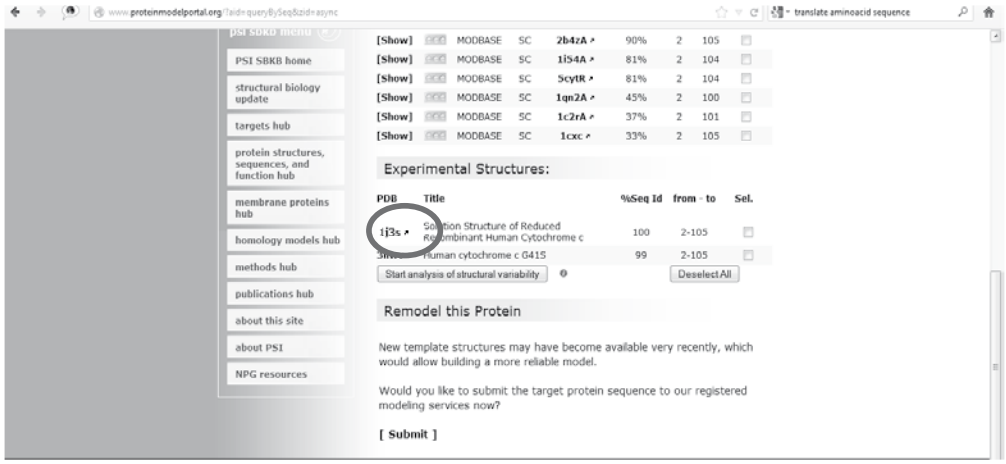
Pri tej vaji potrebujejo dijaki vodenje učitelja. Dijaki odprejo navedeno orodje in v prosto okence vnesejo aminokislinsko zaporedje iz prejšnje naloge in pritisnejo »*Search*«:



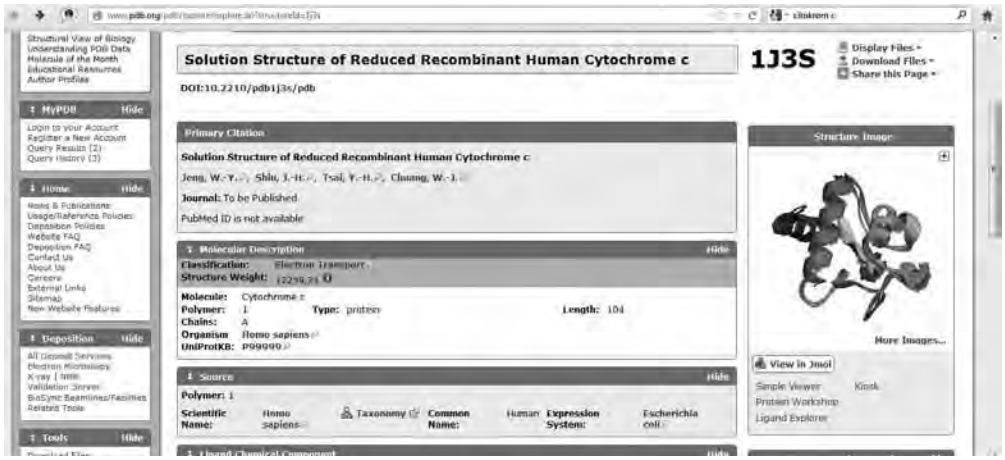
Dobijo naslednjo sliko:



Pomaknejo se navzdol na zvihek »*Experimental Structures*« in kliknejo na prvega, ki se 100-odstotno ujema z njihovim zaporedjem:



Ob strani na desni strani se jim prikaže slika modela. Lahko pogledajo tudi animacijo (gumb »*View*« in »*Jmol*«), pri kateri kliknemo na model in ga po svoji izbiri obračamo:



Skupaj z dijaki odgovorimo na naslednji vprašanji:

a) **Kateri protein** kodira na začetku navedeno nukleotidno zaporedje molekule DNK?

Dijaki iz dobljenih rezultatov ugotovijo, da njihovo zaporedje kodira protein citokrom c.

b) Kakšna je **vloga** tega proteina?

Citokrom c je protein dihalne verige, ki sodeluje pri celičnem dihanju.

Več o tem proteinu in o drugih človeških proteinih lahko dijaki najdejo na:

http://www.expasy.org/ → na levi strani ob robu povezava Proteomics – odprejo se povezave do zbirk podatkov (Databases) – kliknejo na prvo: neXtProt. V prazno okence vtipkajo ime proteina v angleščini in pritisnejo gumb »*Go*«.

Primer preverjanja usvojenega znanja v šoli ali doma

Ugotavljanje tridimenzionalne strukture proteina na podlagi nukleotidnega zapisa molekule DNA

Dijaki lahko v šoli ali za domačo nalogo rešijo določen »problem«, npr.:

Pojedel si velik kos torte. Čeprav je bil izjemno slasten, si svoje telo obremenil z enostavnimi sladkorji. Beta celice trebušne slinavke morajo zaradi hitrega porasta glukoze v krvi proizvesti in izločiti več hormona inzulina, ki omogoči prehajanje glukoze v celice in sintezo glikogena v jetrih in mišičnih celicah. Inzulin je beljakovina.

1. *Skiciraj potek sinteze inzulina v beta celici trebušne slinavke.*

   Pomagaj si s sliko, ki si jo skiciral pri pouku (slika 2).

   a) Naštej, kaj potrebuje celica za izdelavo molekul inzulina?

   b) Kje dobi potrebne molekule?

2. *Z orodji, ki ste jih uporabljali pri pouku, prevedite spodnje nukleotidno zaporedje v aminokislinsko zaporedje za inzulin.*

   ATGGCGCTGTGGATGCGCCTGCTGCCGCTGCTGGCGCTGCTGGCGCTGTGGGGCCCGGAT
   CCGGCGGCGGCGTTTGTGAACCAGCATCTGTGCGGCAGCCATCTGGTGGAAGCGCTGTAT
   CTGGTGTGCGGCGAACGCGGCTTTTTTTATACCCCGAAAACCCGCCGCGAAGCGGAAGAT
   CTGCAGGTGGGCCAGGTGGAACTGGGCGGCGGCCCGGGCGCGGGCAGCCTGCAGCCGCTG
   GCGCTGGAAGGCAGCCTGCAGAAACGCGGCATTGTGGAACAGTGCTGCACCAGCATTTGC
   AGCCTGTATCAGCTGGAAAACTATTGCAAC

   a) V kateri molekuli v celici je zapisano nukleotidno zaporedje, ki določa zgradbo inzulina? Kje v celici je ta molekula?

   b) Kje v celici se prevaja nukleotidno zaporedje v zaporedje aminokislin? Kako imenujemo ta proces?

   c) V katero organsko molekulo se povežejo aminokisline?

   d) Naštej čim več vlog, ki jih imajo te molekule iz aminokislin v celici in v organizmih.

3. *Poišči in si oglej tridimenzionalno zgradbo inzulina.*

Opomba: Dijaki, ki jih zanima več o sintezi inzulina, si bodo morda na Wikipediji prebrali podrobnosti o sintezi tega hormona in o tem povprašali tudi učitelja. Sinteza inzulina je namreč nekoliko zapleten proces, saj njegovo zorenje v celici obsega tvorbo disulfidnega mostička in odcepitev C-peptida.

Navodila za dijake – praktični del

Ugotavljanje tridimenzionalne strukture proteina na podlagi nukleotidnega zapisa molekule DNA

Spodaj sta prikazana nukleotidni zapis molekule DNA za sintezo enega izmed celičnih proteinov ter preglednica aminokislin in njihovih kodonov.

Nukleotidni zapis:

ATGGGTGATGTTGAGAAAGGCAAGAAGATTTTTATTATGAAGTGTTCCCAGTGCCACACC
GTTGAAAAGGGAGGCAAGCACAAGACTGGGCCAAATCTCCATGGTCTCTTTGGGCGGAAG
ACAGGTCAGGCCCCTGGATACTCTTACACAGCCGCCAATAAGAACAAAGGCATCATCTGG
GGAGAGGATACACTGATGGAGTATTTGGAGAATCCCAAGAAGTACATCCCTGGAACAAAA
ATGATCTTTGTCGGCATTAAGAAGAAGGAAGAAAGGGCAGACTTAATAGCTTATCTCAAA
AAAGCTACTAATGAGTAA

Tabela genskega koda – aminokisline in njihovi kodoni

Prvi nukleotid v mRNA	Drugi nukleotid v mRNA: U	C	A	G	Tretji nukleotid v mRNA
U	**UUU** – Phe (F) **UUC** – Phe (F) **UUA** – Leu (L) **UUG** – Leu (L)	**UCU** – Ser (S) **UCC** – Ser (S) **UCA** – Ser (S) **UCG** – Ser (S)	**UAU** – Tyr (Y) **UAC** – Tyr (Y) **UAA** – **stop** **UAG** – **stop**	**UGU** – Cys (C) **UGC** – Cys (C) **UGA** – **stop** **UGG** – Trp (W)	**U** **C** **A** **G**
C	**CUU** – Leu (L) **CUC** – Leu (L) **CUA** – Leu (L) **CUG** – Leu (L)	**CCU** – Pro (P) **CCC** – Pro (P) **CCA** – Pro (P) **CCG** – Pro (P)	**CAU** – His (H) **CAC** – His (H) **CAA** – Gln (Q) **CAG** – Gln (Q)	**CGU** – Arg (R) **CGC** – Arg (R) **CGA** – Arg (R) **CGG** – Arg (R)	**U** **C** **A** **G**
A	**AUU** – Ile (I) **AUC** – Ile (I) **AUA** - Ile (I) **AUG** – Met (M) **start**	**ACU** – Thr (T) **ACC** – Thr (T) **ACA** – Thr (T) **ACG** – Thr (T)	**AAU** – Asn (N) **AAC** – Asn (N) **AAA** – Lys (K) **AAG** – Lys (K)	**AGU** – Ser **AGC** – Ser **AGA** – Arg **AGG** – Arg	**U** **C** **A** **G**
G	**GUU** – Val (V) **GUC** – Val (V) **GUA** – Val (V) **GUG** – Val (V)	**GCU** – Ala (A) **GCC** – Ala (A) **GCA** – Ala (A) **GCG** – Ala (A)	**GAU** – Asp (D) **GAC** – Asp (D) **GAA** – Glu (E) **GAG** – Glu (E)	**GGU** – Gly (G) **GGC** – Gly (G) **GGA** – Gly (G) **GGG** – Gly (G)	**U** **C** **A** **G**

Okrajšave aminokislin:

A – Ala – alanin
C – Cys – cistein
D – Asp – aspartat
E – Glu – glutaminska kisl.
F – Phe – fenilalanin
G – Gly – glicin
H – His – histidin
I – Ile – izolevcin
K – Lys – lizin
L – Leu – levcin
M – Met – metionin
N – Asn – asparagin
P – Pro – prolin
Q – Gln – glutamin
R – Arg – arginin
S – Ser – serin
T – Thr – treonin
V – Val – valin
W – Trp – triptofan
Y – Tyr – tirozin

1. *Prvim tridesetim nukleotidom določi* komplementarno zaporedje nukleotidov *(zaporedje druge verige DNA) in dobljeno zaporedje prevedi v* zaporedje molekule mRNA. *S pomočjo tabele, ki prikazuje genski kod (zgoraj) prevedi zaporedje molekule mRNA v* zaporedje aminokislin. *Zaporedja med seboj primerjaj.*

   DNA – 1. veriga:

   DNA – 2. veriga (komplementarna):

   mRNA:

   aminokislinsko zaporedje:

2. *S pomočjo spletnega orodja* ExPASy Translate (*http://web.expasy.org/translate/*) prevedi celotno zgornjo nukleotidno zaporedje v zaporedje aminokislin. *V prazno polje kopiraj svoje zaporedje, nastavi Output format na »Compact« in pritisni na gumb »Translate sequence«. Zapis zaporedja skopiraj spodaj:*

   Zapis celotnega zaporedja aminokislin:

   Razmisli, zakaj program iz enega nukleotidnega zaporedja poišče kar šest možnosti za aminokislinsko zaporedje?

3. *Na spletni strani ExPASy portala orodij bioinformatike (http://www.expasy.org/) poišči knjižnico za ugotavljanje tridimenzinalne zgradbe proteinov (zavihek structural bioinformatics → Protein Model Portal). Na podlagi aminokislinskega zaporedja našega proteina iz prejšnje naloge* poišči prikaz tridimenzionalne strukture svojega proteina *in si oglej animacijo strukture (datoteka Jmol). Klikni na model in ga obračaj po svoji izbiri.*

   a) **Kateri protein** kodira na začetku navedeno nukleotidno zaporedje molekule DNK?

   b) Kakšna je **vloga** tega proteina?

2.2 Genetika in biotehnologija

2.2.1 Raziskovanje rodovnika

Majda Kamenšek Gajšek, Gimnazija Celje – Center

Povzetek

Raziskovanje rodovnika vključuje izdelavo rodovnika družin (ob upoštevanju varovanja osebnih podatkov). Dijakinje in dijaki narišejo rodovnik družine, v katerega vpišejo genotipe izbranih dveh lastnosti, ki se dedujeta dominantno-recesivno in na katere sklepajo na podlagi vidnih fenotipov posameznih članov družine. Raziskovanje se lahko izvede pri obravnavi/usvajanju oblik dedovanja. Raziskava dijakinje in dijake motivira in omogoča dodatno utrditev osnovnih pojmov, povezanih z mehanizmi dedovanja in z razumevanjem dominantno-recesivnega dedovanja. Od dijakinj in dijakov se pričakuje, da že obvladajo pojme genotip, fenotip in zakonitosti dominantno-recesivnega dedovanja.

Trajanje

Raziskovanje lahko dijakinje in dijaki delno ali v celoti izvedejo kot domače delo. Za pridobitev vseh podatkov in izdelavo rodovnika jim zadošča teden ali dva časa. Pridobiti morajo podatke o fenotipskih značilnostih raziskovanih sorodnikov, jih zapisati in na podlagi tega sklepati o možnih genotipih drugih sorodnikov. Katere značilnosti bodo prikazali v rodovniku, se lahko določi že v navodilih za njegovo izdelavo. Za izdelavo rodovnika jim damo natančna ustna in pisna navodila. Raziskovanje lahko izvajamo v več različicah, ki zahtevajo različno število ur.

Če raziskovanje opravijo dijakinje in dijaki v celoti kot domače delo, potrebujemo za pripravo eno šolsko uro. V njej jim predstavimo namen in potek raziskovanja. Hkrati jim razložimo tehniko izdelave rodovnika. Ko dijakinje in dijaki izdelajo rodovnike, jih oddajo v pregled (ob upoštevanju varovanja osebnih podatkov). Učitelj pregleda rodovnike in jih vrne v popravo pri tistih, ki niso upoštevali navodil ali so se pri izdelavi motili.

Če dijakinje in dijaki doma samo zberejo podatke, rodovnik pa izdelajo v šoli, za izvedbo raziskave potrebujemo skupaj od dve do tri šolske ure v različnih tednih. Najprej dijakinjam in dijakom predstavimo namen raziskave in navodila za zbiranje podatkov (ob upoštevanju varovanja osebnih podatkov), za kar potrebujemo 20 minut. Zbrane podatke nato prinesejo v šolo, kjer jim razložimo navodila za izdelavo rodovnika, ki ga nato skupaj z legendo izdelajo v šoli. Za ta del potrebujejo od eno do dve šolski uri.

Če želimo, da dijakinje in dijaki rodovnike družine predstavijo sošolkam in sošolcem (ob upoštevanju varovanja osebnih podatkov), potrebujemo za predstavitev še dodatno uro ali dve časa. Lahko pa predstavitev izvedemo kot frontalno vodeni razgovor, v katerem predstavimo rezultate (ob upoštevanju varovanja osebnih podatkov). Na primer: Koliko je v raziskanem vzorcu nosilcev posamezne lastnosti, ki so jo opazovali?

Ob medpredmetnem povezovanju npr. s tujim jezikom je mogoče predstavitev rodovnikov izvesti tudi pri urah tujega jezika, ko dijakinje in dijaki predstavijo svojo družino (ravno tako ob upoštevanju varovanja osebnih podatkov).

Povezava z biološkimi koncepti in cilji iz učnega načrta za biologijo

- B – Raziskovanje in poskusi (B1-1, B1-2, B1-3,B1-6,)
- C – Zgradba in delovanje celice (C1, C4, C3)
- D – Zgradba in delovanje organizmov (D2, D2, D3-1, D3-2, D3-3)

Medpredmetne povezave

Raziskovanje omogoča dobro povezavo s tujimi jeziki, kjer je družinsko drevo pogosto osnova za predstavitev družine in sorodstvenih odnosov v tujem jeziku. Pri predstavitvi je tako mogoče predmetno povezovanje z angleščino, španščino, nemščino ali drugim tujim jezikom, ki se ga dijakinje in dijaki učijo in v katerem predstavijo rodovnik.

Uvodna vsebinska izhodišča

Vaja omogoča utrjevanje in preverjanje nekaterih pojmov, povezanih z dedovanjem. Predtem morajo poznati in uporabljati pojme, kot so fenotip, genotip in alel. Poznati morajo dominantno-recesivno dedovanje na avtosomih in znati zapisati dominantne in recesivne alele ter genotipe. Znati morajo tudi prikazati križanje s Punnettovim pravokotnikom. Raziskavo izvedemo, ko obravnavamo dedovanje. Z njo lahko tudi preverimo, ali dijakinje in dijaki obvladajo osnovne pojme in mehanizme dominantno-recesivnega dedovanja.

Raziskovanje uporabimo za učenje izdelave rodovnika. Izberemo tiste lastnosti, ki so fenotipsko dobro vidne in se dedujejo dominantno-recesivno. Dijakinje in dijaki predložijo v pregled izpolnjeno preglednico s popisom fenotipov in zapisanih genotipov družinskih članov (ob upoštevanju varovanja osebnih podatkov) ter izrisan in pravilno označen rodovnik z legendo genotipov. Učitelj rodovnike pregleda in ugotovi, ali dijakinje in dijaki razumejo temeljne mehanizme dedovanja ali ne.

Preglednico fenotipov in genotipov izpolnijo tudi dijakinje in dijaki, ki imajo polbrate ali polsestre. V tem primeru jim dodatno razložimo, kako narediti rodovnik, saj morajo vanj vpisati tudi oba biološka starša polbratov oziroma polsester (ob upoštevanju varovanja osebnih podatkov). Očima ali mačeho v rodovniku narišejo ob strani ob staršu tako, da je razvidno, kateri otroci so polbratje ali polsestre. Lahko pa se rodovnik polbratov in polsester zapiše tudi ob strani kot dodatek osnovnemu rodovniku.

Mogoče je tudi, da imamo v razredu posvojene učence. V tem primeru je smiselno, da učenec – posvojeni otrok naredi primerjavo svojih lastnosti (ob upoštevanju varovanja osebnih podatkov) z lastnostmi družine. Če pa svoje biološke starše pozna in pozna tudi fenotipe opazovanih lastnosti, lahko naredi rodovnik biološke družine. Seveda pa je pri teh učencih potrebno veliko taktnosti in empatije, saj nikoli ne vemo, kako dojemajo in občutijo svoj položaj v družini, kjer živijo. Zato se z njimi o rodovniku posebej pogovorimo, če začutimo, da si to želijo.

Učitelj/-ica naj fenotipe vseh opazovanih lastnosti predstavi v razredu, da bodo dijakinje in dijaki znali lastnosti prepoznati pri sorodnikih. Pri tem lahko uporabijo tudi slikovni material v učbenikih in delovnih zvezkih.

Predstavitev izvedbe

Uvodna navodila za dijakinje in dijake

Dijakinjam in dijakom predstavimo značilne fenotipske lastnosti, ki se dedujejo dominantno-recesivno. Pred tem že spoznajo mejotsko delitev celice in razvojni krog človeka. Vedo, da se razvoj otroka začne z združitvijo jajčeca in semenčice ter z delitvijo tako nastalega spojka ali zigote (v prilogi glej delovni list za dijakinje in dijake). Dijakinjam in dijakom povemo, da bodo pri sorodnikih opazovali nekatere fenotipske lastnosti, za katere vemo, da se dedujejo dominantno-recesivno. Iz fenotipov sorodnikov bodo v nekaterih primerih lahko sklepali, ali so dominantni homozigoti ali heterozigoti.

Predstavitev opazovanih lastnosti in navodila za njihovo opazovanje

Dijakinjam in dijakom predstavimo opazovane lastnosti. Te so barva oči, dominantna roka, sposobnost zvijanja jezika, poraščenost srednjih prstnih členkov, prirasla ali prosta ušesna mečica, možnost gibljivosti palca, raven ali privihan nos in izražena ali potisnjena brada. Lahko izberemo tudi druge lastnosti, vendar moramo paziti, da so fenotipsko jasno vidne. Pri tem uporabimo preglednico, iz katere je razvidno, katera lastnost je dominantna in katera recesivna. Učenci že vedo, da se dominantni alel izrazi pri heterozigotih in pri homozigotih za to lastnost. Osebe, ki kažejo recesivno lastnost, imajo homozigotno kombinacijo recesivnih alelov.

Najlažje je, če fenotipe opazovanih lastnosti pokažemo kar pri dijakinjah in dijakih, pri katerih so fenotipsko vidne (v skladu s spoštovanjem predpisov s področja varovanja biometričnih podatkov).

Barva oči je lahko rjava, svetlorjava, siva, zelena ali modra. Recesivni homozigoti so samo osebe z modrimi očmi. Včasih je barvo težko določiti, posebej pri nekaterih odtenkih sive.

Lažje je pri drugih lastnostih, kot so dominantna roka, zvijanje jezika in poraščenost prstnih členkov. Prav tako je včasih prirasla ušesna mečica pri ljudeh, ki nosijo težke uhane, nekoliko podaljšana in malo spominja na nepriraslo. Če učenci ne morejo jasno prepoznati fenotipske lastnosti, napišejo v preglednici fenotipov ob tej osebi vprašaj.

Pri upogljivosti palca upoštevamo, da lahko osebe z upogljivim palcem tega zavihajo v prvem členku nazaj skoraj za kot 90°. Če palec ni upogljiv, ga lahko premikajo samo v drugem členku.

Privihan nos ima konico dejansko privihano, neprivihan nos pogosto ni raven, ampak je lahko tudi bolj ali manj kljukast oziroma zlomljen.

Pregled fenotipov sorodnikov

Dijakinje in dijaki morajo najprej z opazovanjem pogledati fenotipske lastnosti sorodnikov in jih vpisati v preglednico, ki je sestavni del delovnega lista. Za izdelavo rodovnika uporabijo stare starše, svoje starše in njihove brate in sestre, ter sebe in svoje brate in sestre (v skladu z zakonodajo o varovanju osebnih podatkov). Zapišejo si tudi lastnosti polbratov in polsestra, ter očimov in mačeh, če jih imajo. Rodovnik lahko razširimo tudi z bratranci in sestričnami po obeh starših. Nato za zapisane fenotipe napišejo verjetne genotipe. Pri tem že lahko upoštevajo zakonitosti dominantno-recesivnega dedovanja. To pomeni, če imata starša z dominantnim fenotipom otroka z recesivnim, sta zagotovo heterozigota. Povsod ne morejo ugotoviti, ali so osebe dominantni homozigoti ali heterozigoti. V takšnih primerih zapišejo oba mogoča genotipa.

Navodila za izdelavo rodovnika

Pri izdelavi rodovnika je nekaj pravil, ki so zapisana tudi v učbenikih in jih moramo jasno predstaviti dijakinjam in dijakom. Vsaka oseba, ki jo prikazuje rodovnik, je označena s svojim znakom. Osebe moškega spola v rodovniku označimo s kvadratom, osebe ženskega spola pa s krogom. Pri risanju si naj dijakinje in dijaki pomagajo s šablono za krog in kvadrat. Vodoravna črta, ki povezuje kvadrat in krog, označuje zakonca oziroma starše. Na navpično črto, ki izhaja iz vodoravne, ki povezuje starša, narišemo otroke s krogom ali kvadratom, glede na spol. Če je otrok več, jih povežemo z vodoravno črto, ki se dotika navpične. Pod vsako oznako za osebe naj dijakinje in dijaki napišejo, v kakšnem sorodstvenem razmerju so z njo in njeno ime (v skladu z zakonodajo o varovanju osebnih podatkov).

Rodovnik naj narišejo na list s formata A3, posebej, če imajo veliko sorodnikov. Če je kdo od sorodnikov že umrl, narišejo pred njegovo ime križ. Včasih s katerim sorodnikov nimajo stika in ne morejo ugotoviti vseh njegovih fenotipskih lastnosti, ker je odsoten. V takšnih primerih napišejo samo znane lastnosti ali na koncu napišejo lastnosti, o katerih lahko sklepajo na podlagi fotografij in drugih sorodnikov in zakonitosti dominantno-recesivnega dedovanja. Mogoče je tudi, da zanj lastnosti ne napišejo.

Za prikaz dedovanja izberemo dve lastnosti (lahko tudi več). Dijakinje in dijaki naj kroge in kvadrate v rodovniku z vodoravno črto razdelijo na pol in na vsako polje vpišejo genotip ene od izbranih lastnosti. Oznake alelov naj napišejo v legendi desno spodaj ob rodovniku. V preglednici predstavljenih lastnosti določimo črke abecede za posamezne alele.

Obvezno morajo nad rodovnik napisati naslov, katero družino (v skladu z varovanjem osebnih podatkov) in katere lastnosti te družine rodovnik prikazuje, in v spodnjem desnem kotu napisati legendo alelov, iz katere je razvidno, kateri alel je dominanten in kateri recesiven.

Preverjanje doseženega znanja

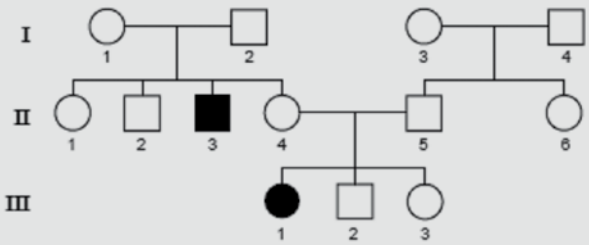
Doseženo znanje je dokaj preprosto preverjati. Že pregled vpisanih genotipov in izdelanega rodovnika nam pove, ali so dojeli osnovne pojme in značilnosti dominantno-recesivnega dedovanja. Iz narisanega rodovnika in vpisa genotipov pa lahko hitro ugotovimo, ali obvladajo princip dominantno-recesivnega dedovanja.

Razumevanje vsebine raziskovanja lahko preverimo tudi s pisnim preverjanjem, v katerega vključimo rodovnik in vprašanja, povezana s tipi dedovanja.

Navedenih je nekaj primerov nalog na različnih taksonomskih nivojih. Pri tem je uporabljena kombinacija Bloomove in Marzanove taksonomije, diferencira znanje v tri taksonomske nivoje (Vir: Predmetni izpitni katalog za splošno maturo za biologijo, Državna predmetna komisija za splošno maturo za biologijo, Merila ocenjevanja izpita in posameznih delov (stran 8–10), Državni izpitni center, Ljubljana, 2010).

Primeri nalog

Rodovnik družine Novakovih prikazuje stare starše ter brate in sestre gospe in gospoda Novak.



1. **Prvi taksonomski nivo znanja obsega temeljno znanje na nivoju poznavanja.**

   Vprašanja:

   1. S katerima oznakama so v rodovniku označeni starši gospe Novak (osebo označite s številko generacije in številko osebe v tej generaciji, npr. II-3).
   2. Koliko stricev ima Tadeja, hči gospe in gospoda Novaka, ki je na skici rodovnika označena s počrnjeno oznako?
   3. Koliko bratov in sestra ima Tadeja/gospa Novak/gospod Novak?
   4. V kakšnem sorodstvenem odnosu sta osebi, ki sta v rodovniku označeni z I-3 in I-4 do Tadeje in v kakšnem med seboj?

   Odgovori:

   1. Starša gospe Novak sta osebi I-1 in I-2.
   2. Tadeja ima dva strica.
   3. Tadeja Novak ima enega brata in eno sestro/gospa Novak ima dva brata in eno sestro/gospod Novak ima eno sestro.
   4. Osebi v rodovniku označeni z I-3 in I-4 sta Tadeji babica in dedek po očetovi strani.

2. **Drugi taksonomski nivo znanja preverja nivo razumevanja in uporabe znanja.**

   Vprašanja:

   1. Tadeja, ki je v rodovniku označena potemnjeno, ima privihan nos, njeni starši pa ravnega. Zapišite genotip Tadeje in njenih staršev.

2. Osebi II-3 in III-1, ki sta v rodovniku potemnjeni, imata modre oči. Kakšen je genotip staršev oseb II-3 in III-1?
3. Vsi sorodniki družine Novak so desničarji. Ali lahko z gotovostjo trdimo, da imajo vsi samo dominantne alele za to lastnost?
4. Gospa Novak je recesivni homozigot z neporaščenimi prstnimi členki, gospod Novak pa je heterozigot s poraslimi prstnimi členki. Katere alele lahko pričakujemo v spolnih celicah gospe Novak in katere v spolnih celicah gospoda Novaka? Svoj odgovor utemeljite.

Odgovori:

1. Genotip Tadeje je nn, genotip njenih staršev pa Nn.
2. Genotip staršev je Rr/Starši oseb II-3 in III-1 so heterozigoti.
3. Ne, ker so desničarji tudi osebe, ki so nosilke heterozigoti z recesivnim alelom.
4. V spolnih celicah gospe Novak lahko pričakujemo samo alel p/za neporasle prstne členke, ker je gospa Novak homozigot in ima samo te alele. V spolnih celicah gospoda Novaka pa lahko pričakujemo alel p/za neporasle prstne členke ali alel P za porasle prstne členke, ker ima gospod Novak oba alela v svojih celicah/v svojem genotipu.

3. Tretji taksonomski nivo znanja obsega samostojno reševanje novih problemov in vrednotenja.

Vprašanja:

1. Mama gospoda Novaka ima nepriraslo/prosto ušesno mečico, oče pa priraslo ušesno mečico. Tudi gospod Novak ima priraslo ušesno mečico. Zapišite genotip mame gospoda Novaka.
2. Tadeja ne more zviti jezika, njena starša pa lahko zvijeta jezik. Ali lahko pričakujemo sposobnost zvijanja jezika tudi pri Tadejini sestri? Utemeljite odgovor.
3. Gospa Novak ima potisnjeno brado, gospod Novak pa štrlečo brado. Tudi mama gospoda Novaka ima potisnjeno brado. Katere genotipe in fenotipe lahko pričakujemo pri njunih otrocih za to lastnost? Pomagajte si s Punnettovim pravokotnikom.
4. V družini Novakovih ima samo gospa Novak upogljiv palec. Njen mož in njeni bratje ter sestre te sposobnosti nimajo. Kolikšna je verjetnost, da imajo sposobnost upogibanja palca tudi otroci gospe Novak? Pri katerih sorodnikih bi še lahko pričakovali sposobnost upogibanja palca? Utemeljite svoj odgovor in ga prikažite z genotipi vseh v križanju udeleženih oseb. Pomagajte si s Punnettovim pravokotnikom.

Odgovori:

1. Genotip mame gospoda Novak je Mm/heterozigoten.
2. Da, Tadejini starši so heterozigoti, zato je mogoče, da je njena sestra nosilka dominantnega alela.

3. Punnettov pravokotnik

Gamete	b	b
B	Bb	Bb
b	bb	bb

Pri njunih otrocih lahko pričakujemo hetozigote/genotip Bb in dominantne homozigote/genotip bb.

Otroci bodo imeli potisnjeno ali štrlečo brado.

4. Sposobnost upogibanja palca je dominantna lastnost. Gospa Novak je heterozigot. Verjetnost upogibanja palca pri njenih otrocih je 50 %.

Ga. Novak →	S	s
Go. Novak ↓		
s	Ss	ss
s	Ss	ss

Sposobnost upogibanja palca bi lahko pričakovali pri enem od staršev gospe Novak. Ta je zagotovo heterozigot, saj so vsi bratje in sestre recesivni homozigoti.

Refleksija

Doseganje pričakovanih znanj

Raziskovanje redno izvajam že nekaj let. Za dijakinje in dijake je izredno motivirajoča in jo radi izvedejo. Hkrati raziskava omogoči celostno povezavo vsebin mejotske delitve celic in nastanka spolnih celic z dedovanjem. Ob raziskavi dijakinje in dijaki tudi bistveno hitreje usvojijo osnovne pojme iz dedovanja, kot so fenotip, genotip, aleli itd. Ker je izdelava družinskega drevesa aktualna tema tudi pri učenju tujih jezikov, jih izdelava rodovnika lastne družine močno pritegne. Na primeru rodovnika je mogoče utrditi tudi druge vrste dedovanja, kot je dedovanje spola, krvnih skupin in poligeno dedovanje. Tudi znanje iz vseh vsebin dedovanja je opazno boljše pri dijakinjah in dijakih, ki so rodovnik izdelali med prvimi. Dostikrat dijakinje in dijaki vsebino raziskave uporabijo tudi za govorne nastope pri predstavitvi družinskega debla pri tujih jezikih (v skladu z varovanjem osebnih podatkov).

Za dijakinje in dijake, ki so manj natančni in vestni, je izdelava rodovnika test potrpežljivosti. Vpisovanje fenotipov in genotipov zahteva natančnost in doslednost. Zato zbiranje podatkov omogoča dobro razvijanje teh veščin. Naučijo se natančnosti in doslednosti s popisom lastnosti, z zapisovanjem podatkov in risanjem rodovnika. Prav tako raziskava zahteva doslednost pri upoštevanju navodil. Pogosto pozabijo ob rodovniku navesti legendo alelov.

Dijakinje in dijaki raziskavo zelo radi izvajajo. Običajno dobijo navodila pred prvim majem, ko imajo preko počitnic nekoliko več časa. Tudi popis lastnosti sorodnikov jim je zanimiv. Ugoden je tudi odziv staršev, ki na govorilnih urah ponosno pove-

do, kako vestno je pri raziskavi sodelovala vsa družina. Nekateri se prek rodovnika začno zanimati za genealogijo in se lotijo tudi genealoške študije družine. Družine nekaterih dijakinj in dijakov že imajo izdelana družinska rodovna drevesa.

Nekoliko več pozornosti je potrebno pri dijakinjah in dijakih, katerih starši so ločeni ali so posvojeni. Pri predstavitvi navodil zato takim dijakinjam in dijakom namenim posebno pozornost in pazim, da ne pride do stigmatizacije. Veliko jim pomeni, če se z dijaki in dijakinjami ločenih staršev, ki so zaradi tega še v čustvenih stiskah, pomenimo posebej, na »štiri oči«, v skladu z zakonodajo o varovanju osebnih podatkov. Tam prisluhnemo njihovim problemom in jim prijazno pomagamo rešiti njihove težave pri izdelavi rodovnika. Običajna težava je v tem, da nimajo stikov z družino enega od staršev in zato težje zberejo podatke o fenotipih sorodnikov tega starša.

Če imamo v razredu posvojenega otroka, je taktnost še posebej na mestu. Včasih takšni dijaki in dijakinje povedo, da so posvojeni, takoj, včasih pa pridejo to povedat šele takrat, ko bi morali že oddati rodovnik. Zato je pomembno, da pri razrednikih povprašamo, ali so v razredu takšni dijaki in dijakinje, in jim že vnaprej ponudimo pomoč in osebni pogovor, kako naj naredijo rodovnik. Če ne poznajo bioloških staršev, je najbolj smiselno, da naredijo rodovnik rejniške družine, v katerem primerjajo svoje lastnosti z lastnostmi družinskih članov. Tisto, kar me je v letih, ko izvajam raziskavo, najbolj presenetilo, pa je to, da večinoma posvojeni otroci »popolnoma ustrezajo« rejniški družini.

Lahko pa navodila za posvojene dijake in dijakinje ter dijake in dijakinje ločenih staršev predstavimo skupaj z drugimi, kot da je to nekaj samo po sebi umevnega (tako se izognemo stigmatiziranju). S tem omogočimo tem učencem določeno stopnjo intimnosti, saj se ne čutijo posebej izpostavljeni ali stigmatizirani.

Priporočena gradiva

1 *Greeneood, T., Shephend, L., Allan, R., Butler, D. (2008). Biologija za gimnazije, delovni zvezek, Ljubljana: Modrijan.*

2 *Stušek, P., Vilhar, B. (2010). Biologija celice in genetika. Ljubljana: DZS.*

3 *Brajkovič, B. (2006). Biologija za gimnazije - Genetika. Ljubljana: DZS.*

Priloga

Delovni list: Raziskovanje lastnosti družine in njen rodovnik

Delovni list

Raziskovanje lastnosti družine in njen rodovnik

Splošni del

Po spočetju se začne delitev tako nastalega spojka ali zigote. Spolni celici, jajčece in semenčica, sta nastali z mejozo, zato sta haploidni. Vsaka vsebuje 23 kromosomov z različicami genov. V otrokovih celicah je tako 46 kromosomov. Na kromosomih so geni, deli DNA, na katerih so zapisani »recepti«/navodila za posamezne lastnosti, kot so barva oči, oblika brade, struktura in barva las itd. Vsak gen se tako pojavlja v dveh različicah – alelih, ki sta eden od enega in drugi od drugega starša. Alela sta lahko po zapisu enaka ali različna. Če sta alela enaka, govorimo o homozigotni kombinaciji alelov, če pa sta različna, je kombinacija heterozigotna. Kako se bo lastnost izrazila na fenotipu potomca, je odvisno od kombinacije alelov in njune izraznosti. Nekateri aleli so dominatni – prevladujoči, drugi pa so recesivni – prikriti. Dominantni aleli se vedno izrazijo, tudi če so v kombinaciji z recesivnim alelom, kar se opazi tudi na fenotipu osebe. Recesivni aleli se fenotipsko izrazijo samo, če je oseba nosilec homozigotne kombinacije določenega recesivnega alela. V tem primeru govorimo o dominantno-recesivnem dedovanju. Pri človeku se veliko genov pojavlja v dveh različicah ali celo več različicah – kot dominanten in kot recesiven alel. Zato lahko iz videza ugotovimo, ali ima neka oseba v svojem genotipu dominanten alel za določeno lastnost. Vendar pri tem ne vemo, ali je oseba dominanten homozigot ali heterozigot. Če je pri osebi fenotipsko izražena recesivna lastnost, vemo, da je recesivni homozigot. Pri svojcih boste opazovali nekatere fenotipske lastnosti, za katere vemo, da se dedujejo dominantno-recesivno. Iz fenotipov vaših sorodnikov boste lahko sklepali, ali so dominantni homozigoti ali heterozigoti.

Naloga

Pri sebi in svojih sorodnikih opazujte barvo oči, dominantno roko, sposobnost zvijanja jezika, poraščenost prstnih členkov, ušesno mečico, gibljivost palca, obliko nosu in obliko brade. Kako se navedene lastnosti dedujejo, je zapisano v predloženi preglednici lastnosti.

Fenotipe in genotipe sorodnikov vpišite v pripravljeno preglednico. Pri vsakem zapisu sorodnika navedite tudi, v kakšnem sorodstvenem odnosu je z vami. Sorodniki, ki jih vključite v raziskavo, so stari starši po mami in po očetu, vaši starši, bratje in sestre ter tete in strici po očetovi in materini strani. Zapišite njihove fenotipske značilnosti in na podlagi zakonitosti dominantno-recesivnega dedovanja sklepajte, ali so vaši sorodniki dominantni ali recesivni homozigoti ali heterozigoti. Pazite na oznake alelov. Velika črka abecede označuje dominantni alel, mala črka pa recesivni alel. Za isti gen morate uporabiti isto črko abecede. Pri tem si pomagajte z značilnostmi dominantno-recesivnega dedovanja, ki ste jih spoznali pri pouku (v skladu z varovanjem osebnih podatkov namesto pravih imen uporabite šifre).

Preglednica 1: Opis opazovanih lastnosti.

Lastnost	**Črka abecede za označevanje**	**Dominantna prevladujoča**	**Recesivna prikrita**
Barva oči	**r**	Rjava, siva, zelena	Modra
Dominantna roka	**o**	Desnica	Levica
Zvijanje jezika	**j**	Lahko zvije jezik	Ne more zviti jezika
Poraščenost prstnega členka	**p**	Poraščen členek	Neporaščen členek

Lastnost	Črka abecede za označevanje	Dominantna prevladujoča	Recesivna prikrita
Ušesna mečica	**m**	Neprirasla mečica/prosta mečica	Prirasla mečica
Gibljivost palca	**s**	Upogljiv palec	Neupogljiv palec
Nos	**n**	Raven nos	Privihan nos
Brada	**b**	Štrleča brada	Potisnjena brada

1. Popis lastnosti dijakinje/dijaka in njegovih sorodnikov

1.1. Ime in priimek učenca

	Barva oči	Dominantna roka	Zvijanje jezika	Poraslost členkov	Ušesna mečica	Gibljivost palca	Oblika nosu	Oblika brade
Fenotip								
Možni genotip								

1.2. Preglednice sorodnikov*

Ime osebe in sorodstveni odnos: (Primer: 1. Ime osebe in sorodstvo: Marija, moja mama)

	Barva oči	Dominantna roka	Zvijanje jezika	Poraslost členkov	Ušesna mečica	Gibljivost palca	Oblika nosu	Oblika brade
Fenotip								
Možni genotip								

Ime osebe in sorodstveni odnos:

	Barva oči	Dominantna roka	Zvijanje jezika	Poraslost členkov	Ušesna mečica	Gibljivost palca	Oblika nosu	Oblika brade
Fenotip								
Možni genotip								

Ime osebe in sorodstveni odnos:

	Barva oči	Dominantna roka	Zvijanje jezika	Poraslost členkov	Ušesna mečica	Gibljivost palca	Oblika nosu	Oblika brade
Fenotip								
Možni genotip								

* *Dijakinje in dijaki dodajo toliko preglednic, koliko sorodnikov imajo (šifriranih, tako, da se ne prepozna vir).*

Ime osebe in sorodstveni odnos:

	Barva oči	Dominantna roka	Zvijanje jezika	Poraslost členkov	Ušesna mečica	Gibljivost palca	Oblika nosu	Oblika brade
Fenotip								
Možni genotip								

Ime osebe in sorodstveni odnos:

	Barva oči	Dominantna roka	Zvijanje jezika	Poraslost členkov	Ušesna mečica	Gibljivost palca	Oblika nosu	Oblika brade
Fenotip								
Možni genotip								

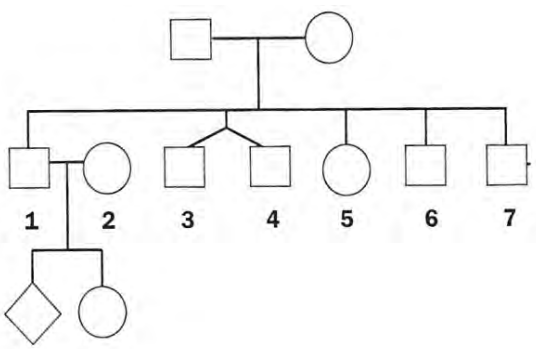
2. Izdelava rodovnika

Narišite rodovnik vaše družine. Začnite s starimi starši (starši vaših staršev oziroma babici in dedka) po mami in po očetu. Nato narišite v rodovnik otroke starih staršev, to je vaše starše, tete in strice po očetovi in mamini strani. Na koncu v rodovnik vrišite in vpišite še sebe, svoje brate in sestre. V kroge in kvadrate, ki označujejo posamezne osebe, vpišite možne genotipe oseb. Izmed lastnosti, ki ste jih popisali pri družinskih članih, izberite dve, ki se vam zdita najznačilnejši za vašo družino. Z rodovnikom prikažite, kako sta se določeni lastnosti prenašali z vaših starih staršev na vaše starše in od njih na vas.

Pri izdelavi rodovnika upoštevajte naslednje oznake.

- Kvadrat označuje osebo moškega, krog pa ženskega spola.
- Za že umrle osebe, za katere ne veste lastnosti, narišite ob imenu križec. Če pa mogoče veste, katere lastnosti so imeli, jih lahko zapišete.
- Pazite na pravilne oznake dominantnih in recesivnih alelov.
- Osebe, ki so poročene z vašimi tetami in strici, v rodovnik vpišite ob strani. Zato tudi tete ali strice napišite na zunanjo stran rodovnika.
- Za dvojčke uporabite kvadrat ali krog glede na spol, potem pa obe osebi povežite.
- Če je vaša družina zelo velika, uporabite za predstavitev rodovnika večji papir (A3).

Primer rodovnika:



Legenda:

- Kvadrat označuje osebe moškega spola.
- Krog označuje osebe ženskega spola.
- Osebi 1 in 2 sta zakonca.
- Osebe 1,3,4,5,6,7 so bratje in sestre.
- Osebi 3 in 4 sta dvojčka 1.
- Kara označuje osebo, katere spol ni znan.

Vprašanja za razmislek

1. Koliko članov vaše družine ima recesivne lastnosti (modro barvo oči, privihan nos, potisnjeno brado)? Izračunajte delež družinskih članov z recesivno lastnostjo.
2. Za katere lastnosti so vaši starši heterozigoti in za katere homozigoti?
3. Razložite, kako lahko iz določenega fenotipa sklepate na genotip neke osebe.
4. Kako lahko ugotovimo na podlagi fenotipa otrok, da so starši heterozigoti?
5. Kolikšna je verjetnost, da se pri posameznem otroku izraža dominantna ali recesivna lastnost? Pomagajte si s Punnettovim pravokotnikom.

2.2.2 Biotehnološki postopek na primeru proizvodnje piva

Majda Kamenšek Gajšek, Gimnazija Celje – Center

Povzetek

Eksperiment zajema celoten postopek izdelave piva. Eksperiment je mogoče izvesti tudi kot celostno demonstracijo biotehnološkega procesa. Predstavljeni eksperiment se izvaja kot utrjevanje sposobnosti izvedbe samostojnega projekta, po katerem dijakinje in dijaki pozneje izvedejo določen biotehnološki postopek sami. Sam eksperiment se lahko izvede tudi kot biotehnološki projekt, ki ga v celoti izpeljejo dijakinje in dijaki. Lahko pa v učnem procesu uporabimo samo določene dele eksperimenta, ki jih vključimo pri obravnavi/predstavitvi rastlin, predvsem procesov med kalitvijo semen, lahko pri obravnavi presnovnih procesov – alkoholnega vrenja ali pri obravnavi gliv kot primer pomena kvasovk v vsakdanjem življenju ljudi. Kot celostni eksperiment ga pri pripravah na maturo lahko uporabimo za pregled in utrjevanje razumevanja presnovnih procesov.

Trajanje

Glede na to, v kakšnem kontekstu uporabimo eksperiment, se spreminja čas, potreben za njegovo izvedbo.

- Če ga izvajamo kot samostojen projekt dijakinj in dijakov, bodo zanj potrebovali od štiri do pet šolskih ur.
- Če ga izvedemo kot demonstracijo biotskega procesa, kjer dijakinje in dijaki samostojno izvedejo le posamezne dokazne reakcije, so za to potrebne tri šolske ure.
- Če ga uporabimo kot pripravo na projekt, pri katerem dijakinje in dijaki samostojno izvedejo določen biotehnološki proces, zadoščata dve šolski uri.
- Kadar uporabimo samo posamezne dele eksperimenta kot demonstracijo, ali jih delno izvedejo dijakinje in dijaki, na primer pri predstavitvi delovanja encimov, ali procesov med kalitvijo semen, ali pri presnovnih procesih, ali pri obravnavi gliv, pa za izvedbo zadošča že ena šolska ura.
- Če eksperiment konceptualno uporabimo pri različnih vsebinah, lahko pri vsaki vsebini vključimo samo del vaje. Tako ga uporabimo večkrat, vendar vsakič pozornost usmerimo na drugi del procesa. V tem primeru moramo na koncu narediti povzetek celostnega procesa in ga uporabiti tudi pri preverjanju celostnega razumevanja presnovnih procesov.

Povezava z biološkimi koncepti in cilji iz učnega načrta za biologijo

- A – Življenje na Zemlji (A1)
- B – Raziskovanje in poskusi (B1-1, B1-2, B1-3, B1-6, B1-8, B1-9, B1-10, B1-12)

- C – Zgradba in delovanje celice (C1, C2, C3))
- F – Zgradba in delovanje organizmov (F4-5, F4-10, F4-17, F4-25, F4-34)
- H – Biotehnologija in mikrobiologija (izbirni program) (H13, H16)
- K – Človek in naravni viri (K5)
- L – Kako deluje znanost
- M – Biologija celice

Uvodna izhodišča

Eksperiment je mogoče izvajati kot samostojen projekt dijakinj in dijakov ali kot celostno predstavitev biotehnološkega procesa pri izbirnem sklopu Biotehnologija in mikrobiologija. V obeh primerih nadgrajujemo in utrjujemo procesne cilje, povezane z uporabo laboratorijskih tehnik in zmožnostjo za znanstveno raziskovanje. Pri tem utrjujemo, nadgrajujemo in povezujemo znanje o delovanju encimov in poteku presnovnih procesov v celostno znanje, ki omogoča celostno razumevanje in predstavitev biotehnološkega procesa.

V nadaljevanju bo predstavljen eksperiment kot priprava na samostojno izvajanje biotehnološkega projekta. Lahko se izvaja v sklopu izbirnega programa Biotehnologija in mikrobiologija ali v rednem programu po obravnavi presnovnih procesov. Pred tem učenci že poznajo delovanje encimov in presnovne procese, ki potekajo v rastlinah in v glivah.

Za izvedbo eksperimenta je potrebno osnovno poznavanje organskih snovi, presnovnih procesov in rokovanja s kemikalijami. Dijakinje in dijaki morajo že poznati postopke znanstvenega dela. To so postavitev hipoteze, preverjanje hipoteze, načrtovanje nadzorovanega poskusa in izvajanje preprostih laboratorijskih tehnik. Pri tem morajo upoštevati načela varnosti pri delu.

Dijakinje in dijaki dobijo na začetku ure pladenj, na katerem so erlenmajerice, v katerih so vmesni produkti posameznih stopenj proizvodnje piva. To so brozga, sladica, hmeljena pivina, kvašena pivina in sveže pivo. Zraven so na pladnju tudi ječmen, slad, hmeljevi briketi in kvas. Dijakinje in dijaki lahko vse snovi poskusijo. Ob opisu postopka na delovnem listu pregledajo vsebino pladnja in odgovarjajo na vprašanja.

Opombe:

- Ekspriment lahko izvaja učiteljica/učitelj tudi frontalno, kot demonstracijo. V vodenem razgovoru predstavlja posamezne postopke biotehnološkega procesa, pojasni osnovne zahteve načrtovanega poskusa in omogoča dijakinjam in dijakom povezovanje znanj različnih področij.
- Ekspriment je mogoče uporabiti tudi za preverjanje sposobnosti načrtovanja poskusov ali razumevanje postopkov načrtovanja eksperimentov. V tem primeru morajo dijakinje in dijaki že poznati potrebne osnovne koncepte in cilje, navedene v uvodu. S samim eksperimentom potem samo preverimo njihovo poznavanje in razumevanje.
- Prav tako je mogoče, da po navodilih dijakinje in dijaki eksperiment priprave piva izvedejo sami, vendar je treba opozoriti, da so postopki priprave sicer enostavni, vendar časovno zahtevni. Zato so izvedljivi

samo pri projektnih dnevih v manjših skupinah. Za celoten postopek, od priprave sladice (pojasniti pojem sladica) do hmeljene kvašene pivine, je potrebno okoli pet ur, odvisno od spretnosti dijakov. Vrenje v hladilniku običajno poteka 48 ur, zorenje pa še naslednja dva tedna.

Eksperiment lahko vključujemo v razlago različnih bioloških vsebin, od delovanja encimov do predstavitve presnovnega procesa alkoholnega vrenja, tudi po delih. Navajam nekaj primerov vsebin, kjer ga je mogoče uporabiti:

- Pri eksperimentu lahko pokažemo delovanje in pomen encimov pri kalitvi ter njihovo občutljivost na temperaturo. Mogoče je prikazati pomen gliv kvasovk in rastlin za človeka ter proizvodnjo sladu povezati s pomenom presnovnih procesov v kalečih semenih. Prav tako lahko v eksperimentu ponazorimo razmere, potrebne za življenje celic gliv, in njihov pomen za potek alkoholnega vrenja.
- Proces pridobivanja sladu lahko uporabimo kot primer za predstavitev procesov pri kalitvi. Pri tem predstavimo vlogo vode in temperature za hidrolizo škroba v semenih, aktivacijo kalčkovih encimov in z jodovico kot indikatorjem prikažemo spreminjanje količine škroba v kalečem semenu.
- Pri dodajanju kvasa v vrelo/vročo sladico lahko ponazorimo vpliv visoke temperature na presnovne procese in to povežemo z vplivom abiotskih dejavnikov na delovanjem encimov v kvasovkah.
- Prav tako lahko z eksperimentom prikažemo vpliv temperature na delovanje encimov kalčka pri proizvodnji sladu.

Opomba: Če vajo izvedemo po delih pri različnih enotah, moramo na koncu narediti povzetek celotnega procesa in ga povezati v celoto. To lahko naredimo tudi kot sestavni del utrjevanja presnovnih procesov ali kot preverjanje znanja.

Predstavitev izvedbe

Postopek izdelave piva

1. Slad grobo zmeljemo (lahko s paličnim mešalnikom ali v mlinčku za kavo) in ga vsujemo v 250 ml vode s temperaturo od 45°C do 50°C. Vse skupaj počasi segrevamo na 70°C. Mešanica se imenuje brozga. Pri temperaturi 70°C brozgo vzdržujemo 30 minut, da se aktivirajo encimi v sladu. Količino že razgrajenega škroba preverjamo z jodovico.
   (V čisto čašo damo malo sladu, ki bo namenjena pokušnji. Del brozge shranimo v erlenmajerici, ki jo označimo s številko 1.)
2. Nato brozgo precedimo skozi gosto krpo (gazo) in speremo s preostalimi 250 ml vode s temperaturo 70°C. Tako smo dobili sladico.
   (Del sladice shranimo v erlenmajerici, ki jo označimo s številko 2.)
3. Preostalo sladico počasi segrevamo do vrenja in ji dodamo hmeljeve brikete. Nato mešanico počasi kuhamo 15 minut. Tako dobimo hmeljeno pivino.
   (Del hmeljene pivine shranimo v erlenmajerici, ki jo označimo s številko 3. V čisto čašo damo malo hmeljevih briketov, ki bo namenjena degustaciji.)

4. Pivino precedimo in ohladimo na 10°–12°C.
   (Del precejene hmeljene pivine shranimo v erlenmajerici, ki jo označimo s številko 4. Kvas ji bomo dodali kakšno uro ali dve pred demonstracijo oziroma šolsko uro, ko bomo demonstracijo izvedli.)
5. Nato precejeni hmeljeni pivini dodamo kvas. Hmeljeno pivino s kvasom pustimo v hladnem prostoru (uporabimo hladilnik, temperatura naj bo med 10°C in 12°C), da se izvrši alkoholno vrenje. To se konča v dveh dneh.
   (Del piva takoj po vrenju shranimo v erlenmajerici in ga ne precedimo. Erlenmajerico označimo s številko 5. Na dnu ima usedlino kvasovk. Goščo kvasovk, ki ostane na gazi po precejanju, damo v čašo in pokrito shranimo v hladilniku.)
6. Prestalo tako dobljeno pivo precedimo skozi gosto krpo (gazo) in lahko pustimo v erlenmajerici v hladilniku zoreti dva tedna.
   (Erlenmajerico označimo s številko 6.)

Opombe:

Postopek priprave vseh stopenj postopka izdelave piva ni zahteven. Kljub temu moramo izredno paziti na čistočo steklovine in vseh uporabljenih sestavin. Voda, ki jo uporabimo v postopku, je lahko vodovodna. Vsako erlenmajerico, v katero shranjujemo vmesne produkte procesa, takoj zatesnimo s čistim zamaškom ali zapremo s folijo in shranimo v hladilnik. Za laboratorijsko proizvodnjo piva je količina vseh sestavin zmanjšana na 10 % izvirnega recepta.

Običajno pripravimo ves potrebni material od dva do tri dni pred izvedbo v razredu in ga do eksperimenta pustimo v hladilniku.

Na posebnem pladnju pripravimo stojalo z epruvetami in kapalne stekleničke z jodovico.

Priprava učne ure

Dijakinje in dijaki že poznajo delovanje encimov in potek alkoholnega vrenja ter vlogo gliv kvasovk pri tem procesu. Pri predstavitvi biotehnoloških procesov ponovimo, kako delujejo encimi, kaj je vloga ATP, in to povežemo s presnovnimi procesi, ki potekajo v kvasovkah (alkoholno vrenje in celično dihanje). Ponovimo abiotske dejavnike, ki vplivajo na hitrost presnovnih procesov (zadostna količina vode, temperatura in prisotnost kisika).

Eksperiment izvedemo v dvojicah, vsaka dvojica dobi pladenj z vsemi šestimi erlenmajericami, iz posameznih stopenj priprave piva, čašo s sladom, čašo s hmeljevimi briketi in kvasom. Na pladenj damo tudi jodovico in pH-lističe. Ker je materiala veliko, lahko en pladenj uporabljata dve dvojici dijakov. (Če izvajamo eksperiment kot frontalno demonstracijo, moramo pripraviti vsaj po en pladenj za štiri dijake in enega, ki ga uporablja učiteljica/učitelj.) Za izvedbo potrebujemo dve šolski uri.

Izvedba izbranega postopka

Dijakinjam in dijakom razdelimo delovne liste z opisom postopka in vprašanji, na katera sproti odgovarjajo. Posebej v uvodu pojasnimo, kaj je slad in kaj je vlo-

ga hmelja pri proizvodnji piva. Najprej jih usmerimo na zaporedje opisa stopenj postopka. Povemo jim, da je vsaka od stopenj opisanega postopka predstavljena v erlenmajerici z ustrezno številko. Vsebino erlenmajerice in čaš naj si temeljito ogledajo, lahko tudi poduhajo. Slad in brikete lahko tudi poskusijo. Nato naj preberejo vprašanja in poskusijo nanje odgovoriti. Povemo jim, da imajo za pregled postopka na voljo 20 minut.

Po preteku časa jih pozovemo, da naj vsaka dvojica predstavi svoj odgovor na enega izmed vprašanj. Vodimo razgovor in diskusijo. Dvojica, ki odgovarja na vprašanje, kako bi preverili, da je ves škrob v sladici razgrajen, lahko ob navedbi indikatorja, tudi demonstracijsko pred sošolkami in sošolci izvede škrobni test in kontrolni poskus zanj. Prav tako lahko v dvojicah izmerijo pH tekočine v posameznih erlenmajericah.

Med odgovarjanjem na vprašanja se pogovarjamo o pomenu piva kot alkoholne pijače s precejšnjo hranilno vrednostjo. Z dodatnimi vprašanji skušamo bolj celostno predstaviti postopek. Dijakinjam in dijakom predlagamo, naj se vživijo v delo biotehnologa v pivovarni. Lahko si pomagamo z podvprašanji, kako bi na primer rešili problem, če bi se vrenje ne začelo kljub dodanim kvasovkam. Kako bi preverili, ali so kvasovke žive, in kako bi rešili problem, če bi bil v sladici še vedno škrob. Seveda odgovarjamo tudi na vprašanja dijakinj in dijakov.

Prednosti uporabljanega postopka

Pivo dijakinje in dijaki poznajo iz vsakdanjega življenja, zato je predstavitev postopka njegove izdelave zanje zanimiva. Vse stopnje proizvodnje je mogoče poskusiti, kar še dodatno prispeva k celostnemu pristopu. Ker jih postopek pritegne, hitro povežejo stopnje postopka s teorijo. Lahko jim ponudimo, da postopek izvedejo v celoti sami v šoli in vedno se najde nekaj bolj navdušenih, ki potem v šolskem laboratoriju pripravijo pivo. Tisti dijaki in dijakinje, ki še ne obvladajo postopka načrtovanja poskusa, hitro usvojijo manjkajoče stopnje.

Z eksperimentom ponovimo laboratorijske tehnike, kako kvalitativno dokazati vsebnost škroba ali kako izvesti kontrolni poskus, saj je tehnologija preprosta. Pogosto pri pogovoru sami predlagajo metodo igranja vlog, v kateri en dijak/dijakinja izbere vlogo biotehnologa in drugi pa vodilnega komercialista, ki želi čim boljše pivo.

Pomanjkljivosti uporabljenega postopka

Če eksperiment uporabimo za utrjevanje razumevanja postopka načrtovanja eksperimenta, zaradi frontalne oblike vodenja razgovora ne vemo vedno, kako stopnje načrtovanja obvladajo posamezni dijaki in dijakinje. Če je skupina velika, vpliva tudi različen tempo dela posameznih dijakinj in dijakov. Zato moramo v prvem delu, ko dijakinje in dijaki sami sledijo navodilom in odgovarjajo na vprašanja, zelo aktivno preverjati, kako delajo posamezne skupine, in jih spodbujati, da opravijo vse v določenem času. Običajno se ustavijo pri stopnji, ko se sladici doda hmelj. Tisti, ki poskusijo hmeljeve brikete, radi komentirajo svoje zaznave, ker je hmelj zelo grenak. Zato potrebujejo nekoliko več časa, da odgovorijo na vsa vprašanja. Nekateri dijaki in dijakinje si odgovorov ne pišejo sami, ampak počakajo na razgovor in potem povzamejo skupne ugotovitve.

Eksperiment je najlažje delati v skupini do 16 dijakinj/dijakov.

Preverjanje doseženega znanja – splošni del

V predstavljenem primeru se znanje, pridobljeno pri eksperimentu, ocenjuje pri projektnem delu, ki mu sledi. Eksperiment je v predstavljenem primeru uvod v projektno delo, ki ga izvedejo dijakinje in dijaki sami in pri katerem preverimo in ocenimo njihovo delo. Pri projektni nalogi dijakinje in dijaki izberejo znan biotehnološki proces (izdelava jogurta, skute, kislega mleka, peka kruha, kisanje zelja, izdelava jabolčnega kisa), ki ga potem izvedejo na vseh stopnjah v celoti doma ali v šoli. Pri izvedbi biotehnološkega procesa spremljajo spremembe pH, temperature ali druge parametre, ki se pri procesu spreminjajo. Po opravljenem projektu izdelajo poročilo in ga predstavijo sošolkam in sošolcem.

Ker je eksperiment namenjen utrjevanju razumevanja načrtovanja biotehnološkega poskusa, lahko sledi tudi pisno preverjanje. Pri tem je smiselno uporabiti strukturirane naloge, ki prek zastavljenega problema vodijo dijakinje in dijake skozi postavitev hipoteze, načrtovanje poskusa, predstavitve kontrolnih poskusov do načina vrednotenja podatkov. Tako lahko preverimo celostno razumevanje sposobnosti načrtovanja in razumevanje biotehnološkega procesa.

Preverjanje je mogoče izvesti tudi z nalogami izbirnega tipa, kombiniranimi s strukturiranimi nalogami. Tudi v tem primeru skupaj preverjamo tako sposobnost načrtovanja kot razumevanja biotehnoloških procesov.

Preverjanje osvojenega znanja s projektno nalogo

Če smo načrtovali, da dijakinje in dijaki po eksperimentu izvedejo še samostojni projekt, lahko tega ocenimo s samostojno oceno. V tem primeru dijakinje in dijaki doma samostojno izvedejo znan biotehnološki postopek. Pri tem spremljajo in zapisujejo spreminjajoče se parametre in dokumentirajo svoje delo. O izvedbi napišejo poročilo in ga predstavijo sošolkam in sošolcem. Tako lahko celostno preverimo in ocenimo poznavanje, razumevanje in izvedbo izbranega biotehnološkega procesa. Izberemo biotehnološke postopke, ki so enostavni, vendar morajo dijakinje in dijaki pri izvedbi uporabiti vse veščine in znanje, pridobljeno pri eksperimentu. Dijakinjam in dijakom ponudimo postopke, kot so priprava jogurta, skute, kislega mleka, kefirja, kislega zelja, jabolčnega kisa ali peka kruha.

Dijakinje in dijaki morajo biotehnološki postopek doma samostojno izvesti, izmeriti možne fizikalne in kemijske parametre, opisati organoleptične lastnosti svojega izdelka in dokumentirati vse stopnje postopka. Svoje delo kritično ovrednotijo in o svojih ugotovitvah poročajo. Na podlagi naštetega napišejo poročilo in postopek predstavijo sošolkam in sošolcem v razredu. Pri tem ocenimo njihovo poročilo in predstavitev po merilih za ocenjevanje.

V nadaljevanju bom predstavila:

- priporočila za izdelavo projekta,
- priporočila za izdelavo poročila in
- merila za ocenjevanje poročila in predstavitve.

Če je za dijakinje in dijake to prvi povsem samostojni projekt, morajo biti navodila zanj natančna.

Priporočila za izdelavo projekta

Projekt je samostojno delo, ki vključuje:

- iskanje receptur za izvedbo projekta in izbiro primerne recepture/ustreznih metod;
- načrtovanje projekta, izdelavo urnika dela za izvedbo in samostojno izbiranje podatkov o izbrani temi;
- obdelavo in izbor za projekt pomembnih teoretskih izhodišč in podatkov;
- samostojno načrtovanje in izvedbo kratkega biotehnološkega eksperimenta na izbrano temo (peka kruha, kisanje mleka, kisanje zelja);
- opazovanje kvantitativnih spremenljivk v procesu (pH in temperatura);
- opazovanje kvalitativnih spremenljivk in primerjavo organoleptičnih lastnosti živil pred biotehnološkim procesom in po njem;
- ovrednotenje eksperimenta in priprava poročila o opravljenem projektu;
- predstavitev projekta v obliki PowerPointa ali plakata in govorne predstavitve;
- oblikovanje posamezne ocene na podlagi opravljenega dela.

Delovni list

Kako naredimo pivo

Postopek dela

1. Projekt boste izvajali individualno doma. Za svoje delo si naredite načrt, ki naj obsega datume nastavitve projekta in predviden čas izvedbe. Načrt dela je sestavni del poročila.
2. Recepte/metode za svoje projekte poiščite v vam dosegljivih virih in v poročilu navedite vir. Projekt morate dokumentirati v vseh stopnjah dela. Delovne stopnje lahko fotografirate, opišete ali predstavite v obliki preglednice s podatki.
3. pH-indikatorske lističe dobite v šoli. Po merjenju pH jih dajte v plastične vrečke in prinesite v šolo, da jih bomo odvrgli med posebne odpadke.
4. Temperaturo, pri kateri bo potekal vaš eksperiment/projekt, izmerite s termometrom, ki si ga lahko izposodite v šoli.
5. Količine za eksperiment/projekt uporabljenih sestavin naj bodo majhne. Svetujemo 1 kg zelja (navadnega ali kitajskega, do 1 l mleka za izdelavo jogurta, kislega mleka, kefirja, skute in za peko kruha do 1 kg moke). Pri projektu je pomembno, da opazujete spremembe organoleptičnih lastnosti mleka, zelja ali moke. *Organoleptične lastnosti* so kakovostne lastnosti, ki jih človek oceni s čutili, kot so okus, vonj, tekstura, videz, barva, otip in gostota. Z njimi boste opazovali spremembe, ki jih bodo v živilih povzročili mikroorganizmi.
6. Po opravljenem projektu napišete poročilo in pripravite predstavitev projekta. Navodila za izdelavo poročila so sestavni del navodil za izvedbo. Poročilo mora vsebovati uvod, metodologijo, rezultate, razpravo, povzetek in citirano uporabljeno literaturo. Poročilo oddajte v pisni obliki, ocenjeno bo po predstavljenih merilih.
7. Predstavitev lahko izvedete ob plakatu ali ob računalniku. Za pripravljeno predstavitev boste imeli na voljo 5–8 minut. Obsegati mora kratek teoretičen uvod in predstavitev rezultatov eksperimenta. Pri tem kritično ovrednotite svoje delo, ugotovitve in izkušnje. Predstavitev bo ocenjena po merilih, ki jih bo predstavil učitelj.

Predstavitev predlaganih biotehnoloških procesov za dijakinje in dijake

1. **Kisanje navadnega zelja ali kitajskega zelja** – posebna oblika mlečnokislinskega vrenja in način konzerviranja zelenjave.
   - V projektu boste opazovali biotehnološki postopek kisanja zelja. Pri tem boste izmerili pH zelja pred končanim postopkom in po njem in opisali druge razmere, pri katerih poteka biotehnološki proces.
   - Spremljali/analizirali boste dejavnike, ki vplivajo na potek mlečnokislinskega vrenja (kisik, uporaba soli, temperatura, vrsta zelenjave).
   - Spoznali boste tehnologijo kisanja zelja – to je postopek izdelave kislega zelja iz surovega zelja v kozarcu za vlaganje ali plastični vrečki iz zelo debele folije.
   - V projektu boste primerjali organoleptične in kemijske lastnosti zelja pred kisanjem in po njem – analiza pH.
   - Ovrednotite pomen kisanja zelja za konzerviranje živil.

2. **Kislo mleko, jogurt ali skuta.** Kisanje mleka je ena najstarejših uporabljenih oblik mlečnokislinskega vrenja, s katerim naredimo mleko obstojnejše in lažje prebavljivo.

   - V projektu boste opazovali biotehnološki postopek kisanja mleka. Pri tem boste izmerili pH mleka pred postopkom in po njem in spremljali razmere, pri katerih poteka biotehnološki proces.
   - Spremljali/nalizirali boste dejavnike, ki vplivajo na mlečnokislinsko vrenje (prisotnost kisika, uporaba že skisanega mleka ali jogurta kot osnovo kulture bakterij, temperatura).
   - Spoznali boste tehnologijo kisanja mleka - postopek izdelave iz surovega mleka v skledi ali plastičnem lončku.
   - V projektu boste primerjali organoleptične in kemijske lastnosti mleka pred in po kisanju ter primerjali pH svežega in kislega mleka.
   - Ovrednotite pomen kisanja mleka v prehrani ljudi, ki ne prebavljajo mlečnega sladkorja (imajo laktozno intoleranco). Posebej bodite pozorni na kisanje, ki ga lahko izvedete z divjimi tipi bakterij iz zraka ali s kulturo iz že pripravljenega izdelka iz mlekarne (jogurt iz mlekarne). Če boste izdelali skuto morate mleko zanjo najprej skisati in ga potem segreti (tradicionalni način pridobivanja).

3. **Peka kruha in uporaba kvasovk.** Uporaba kvasovk pri peki kruha je zelo star postopek. Kvas je stranski produkt, ki v pivovarnah nastaja pri varjenju piva. Procesi, ki jih vršijo kvasovke, naredijo kruh bolj rahel in lažje prebavljiv.

   - V projektu boste opazovali biotehnološki postopek peke kruha. Pri tem boste izmerili volumen testa pred in po vzhajanju.
   - Spremljali/analizirali boste dejavnike, ki vplivajo na alkoholno vrenje in celično dihanje (kisik, temperatura).
   - Spoznali boste tehnologijo peke kruha v domači kuhinji.
   - V projektu boste primerjali organoleptične in kemijske lastnosti testa pred vzhajanjem in po njem ter primerjali značilnosti testa pred peko kruha in po njej.
   - Ovrednotite pomen peke kruha v prehrani ljudi. Posebej upoštevajte, kako kvasovke prebavljajo škrob v moki in vsrkavajo monosaharide ali disaharide, ki nastanejo z encimsko razgradnjo škroba, kar spremeni tudi prebavljivost kruha v primerjavi s testom. Posebej bodite pozorni na dogajanje v pečici med peko kruha (zakaj se njegova prostornina dodatno poveča, kaj se zgodi s kvasovkami, kaj s škrobom v skorji in kaj s produkti alkoholnega vrenja, ki tudi poteka v testu).

Priporočila/Navodila za izdelavo poročila in predstavitve za dijakinje in dijake

Po opravljenem projektu morate napisati poročilo. V poročilu lahko za prikaz postopkov/vašega dela uporabite fotografije, skice ali grafe. Poročilo bo ocenjeno. Ocena poročila je sestavni del ocene opravljenega projekta.

1. Navodila za pisanje poročila

1.1. Uvod (namen projekta in vloga mikroorganizmov v biotehnološkem projektu, ki ste ga izvedli).

1.2. Metodologija (recept, opis poskusa in predstavitev kontrolnih poskusov).

1.3. Rezultati poskusa.

1.4. Razprava (vaša spoznanja in mnenja o biotehnološkem postopku in lastnem opravljenem delu ter vaše kritično mnenje in ugotovitve).

1.5. Zaključki (bistvene ugotovitve po opravljenem delu).

1.6. Seznam citiranih in uporabljenih virov, ki ste jih uporabili pri projektu.

2. Navodila za pripravo predstavitve in poročanje

O opravljenem projektu boste pripravili kratko predstavitev (od 5 do 8 minut). Pri tem si lahko pomagate z računalniško opremo v učilnici. Za poročanje lahko pripravite tudi plakat. Poročanje bo ocenjeno. Ocena poročila bo sestavni del ocene opravljenega projekta.

Če boste predstavili svoje delo v obliki v obliki elektronskih prosojnic, pazite:

- Na posameznih elektronskih prosojnicah naj bodo samo bistveni povzetki, ali fotografije, ali skice, ali grafi.
- Pazite na barve ozadja, velikost in barvo črk (font vsaj 24) in velikost datotek uporabljenega slikovnega gradiva. Obseg naj bo prilagojen času poročanja.
- Med predstavitvijo govorite prosto ali berete. Prost govor daje boljšo oceno predstavitve.
- Navedite vire uporabljenih gradiv in slik. Če boste uporabili lastne fotografije, jih pred uporabo primerno obdelajte.

Ocenjevalni list

Merila za ocenjevanje poročila in predstavitve

Del poročila in skupno možno doseženo število točk	**Merila/elementi, ki bodo ovrednoteni**				**št. točk**
Uvod (skupaj 6 točk)	• Navedeni ustrezni cilji projekta (od 0 do 1 točka) • Razumljivo predstavljeni osnovni mehanizmi biotehnološkega procesa (od 0 do 2 točki) • Ustreznost predstavitve mikroorganizmov, ki proces povzročajo (od 0 do 2 točki) • Predstavljen pomen biotehnološkega procesa za človeka (od 0 do 1 točka)				
Metodologija (skupaj 4 točke)	• Izbor in uporaba ustreznega biotehnološkega postopka/recept biotehnološkega postopka (potrebni material in opis postopka) (od 0 do 2 točki) • Opis/obrazložitev izbrane metodologije merjenja spremenljivk (od 0 do 2 točki)				
Rezultati (skupaj 5 točk)	• Ustreznost predstavitve/slike opravljenih postopkov (od 0 do 1 točka) • Ustreznost ureditve in prikazov zbranih podatkov Podatki merjenja pH in temperature v preglednici in prikaz v obliki grafa (od 0 do 2 točki) • Opis in utemeljitev ugotovljenih organoleptičnih lastnosti ob začetku in ob koncu postopka (od 0 do 2 točki)				
Razprava (skupaj 8 točk)	• Komentar/obrazložitev procesov v postopkih (od 0 do 2 točki) • Analiza in utemeljitev ugotovitev/komentar opaženih izmerjenih sprememb pH in temperature (od 0 do 2 točki) • Utemeljitev/komentar sprememb organoleptičnih lastnosti (od 0 do 2 točki) • Refleksija/kritično vrednotenje izvedbe (od 0 do 2 točki)				
Zaključki (skupaj 3 točke)	• Zapis zaključkov in ustrezna utemeljitev (1točka) • Bistvene ugotovitve (od 0 do 2 točki)				
Literatura (skupaj 3 točke)	• Pravilno citirani viri (od 0 do 1 točke) • Število ustrezno uporabljenih virov (do dva vira 1 ena točka, več kot dva vira 2 točk) Lahko je en vir boljši od 20 drugih!!!				
Upoštevanje navodil (skupaj 1 točka)	• Priložen ustrezen načrt dela (od 0 do 1 točke)				
Vsebina predstavitve (skupaj 6 točk)	• Cilj in namen eksperimenta/projekta (od 0 do 2 točk) • Opis postopkov biotehnološkega procesa (od 0 do 2 točki) • Povzetek ugotovitev in kritično vrednotenje (od 0 do 2 točk)				
Nastop pri predstavitvi (skupaj 4 točke)	• Dijakinja/dijak bere z lista (od 0 do 1 točka) Lahko zna enako kvalitetno, kot če prosto govori!!!! - paziti, da ne ocenjujemo osebnostnih lastnosti. • Dijakinja/dijak prosto govori (od 0 do 2 točk) • Dijakinja/dijak korektno uporablja ustrezne strokovne termine (od 0 do 1 točke)				
Skupaj 40 točk					25
Št. točk	20-24	25-29	30-45	36-40	
Ocena	2	3	4	5	

Delovni list

Predstavitev biotehnološkega postopka izdelave piva

Pivo je ena najstarejših alkoholnih pijač. V zori človeške civilizacije je pomenilo pomemben vir bakteriološko neoporečne pijače z visoko hranilno in biološko vrednostjo. Poznali sta ga asirska in babilonska kultura. Nekateri menijo, da so tudi zaradi pomanjkanja hrane in piva ter slabe oskrbe vojske s pivom verjetno propadala nekatera kraljestva. Egipčanske slike v piramidah prikazujejo peko kruha in pripravo piva kot dve najpomembnejši obrtni dejavnosti. Po 4000 let starih egipčanskih receptih so Angleži zvarili egipčansko pivo. Pivo že od starega veka pomeni alkoholno pijačo, narejeno iz različnih vrst žita. Pijači okus dajejo najrazličnejša zelišča, sadje ali plodovi posameznih rastlin z močnim in izrazitim okusom. Hmeljevo pivo, ki mu aromo dajejo koški hmelja, so začeli variti šele Evropejci konec srednjega veka. Hmelj vsebuje več različnih snovi, med njimi tudi lupulin. Lupulin deluje antibakterijsko in daje pivu grenak okus. Alkaloid lupulin deluje pomirjevalno in diuretuično. Danes hmelj predstavlja osnovno surovino za večino piv, čeprav evropska tradicija še vedno pozna češnjevo, višnjevo, ingverjevo, čokoladno, bezgovo in celo rmanovo pivo.

Material:	**Opombe:**
• 125 g slada (kaljeni ječmen) • 500 ml vode • 12,5 g hmelja • 50 g pivskega ali pekovskega kvasa • jodovica • čaše	Slad ima ime po sladnem sladkorju-maltozi. Pridobivamo ga tako, da v primerno toplem prostoru razprostrejo ječmen, ki ga vlažijo. Voda sproži v semenu ječmena kalitev. Kalček (mlada rastlinica) v semenu začne izločati encime, ki razgrajujejo rezervni škrob v semenu. Pri razgradnji škroba nastajajo molekule v vodi topne maltoze, ki jih kalček uporabi za pridobivanje ATP in rast celic.

1. Slad grobo zmeljemo in v 250 ml vode s temperaturo od 45°C do 50°C počasi segrevamo do 70°C. Na tej temperaturi brozgo vzdržujemo 30 minut, da se aktivirajo encimi v sladu. Količino že razgrajenega škroba preverjamo z jodovico.

   Navodilo: Oglejte si erlenmajerico številka 1. Poduhajte njeno vsebino.

   V čaši na pladnju se nahaja slad, ki ga lahko poskusite.

   Rešite nalogi:

   a) Razložite, kako lahko po škrobnem testu ugotovite, da v brozgi ni več škroba.

   b) Opišite, kako bi izvedli kontrolni poskus za preverjanje, ali je že razgrajen ves škrob.

2. Nato brozgo precedimo skozi gosto krpo in speremo s preostalimi 250 ml vode s temperaturo 70°C. Tako smo dobili sladico.

   Navodilo: Oglejte si erlenmajerico številka 2. Poduhajte njeno vsebino. Z žličko lahko poskusite, kakšen okus ima. Na osnovi postavljene hipoteze odgovorite na vprašanja.

   Hipoteza: Sladica ne vsebuje dovolj sladkorja za začetek alkoholnega vrenja.

   a) Kako bi s poskusom preverili navedeno hipotezo?

   b) Kako bi nastavili kontrolni poskus za zastavljeni poskus?

   c) Opišite rezultat, ki bo potrdil postavljeno hipotezo.

3. Sladico počasi segrevamo do vrenja in dodamo hmelj (briketi). Nato mešanico kuhamo 15 minut. Tako dobimo hmeljeno pivino.

   Navodilo: Oglejte si erlenmajerico številka 3. Poduhajte njeno vsebino.

   V čaši na pladnju se nahajajo hmeljevi briketi, ki jih lahko poskusite. So zelo grenkega okusa.

4. Pivino precedimo, ohladimo na 10°–12°C in ji dodamo kvas.

   Navodilo: Oglejte si erlenmajerico številka 4. Poduhajte njeno vsebino.

   Odgovorite na vprašanji:

   a) Razložite, kaj bi se zgodilo, če bi kvas dodali takoj, v še vročo hmeljeno pivino?

   b) Naredili ste hmeljeno pivino po opisanem postopku. Po dodatku kvasa se alkoholno vrenje ni začelo. Kaj bi bilo lahko narobe?

   Naštejete možne napake v dosedanjem postopku in metode, s katerimi bi napake preverili.

5. Hmeljeno pivino s kvasom pustimo v hladnem prostoru, da poteče alkoholno vrenje. To se konča v nekaj dnevih (običajno dveh).

   Navodilo: Oglejte si erlenmajerico številka 5. Poduhajte njeno vsebino.

   Odgovorite na vprašanji:

   a) Kako lahko vemo, kdaj se je alkoholno vrenje končalo?

   b) Katere snovi, ki jih prej ni bilo, so bile po opravljenem vrenju v pivu?

   c) Zakaj so kvasovke prenehale opravljati alkoholno vrenje? Navedite razloge in jih utemeljite.

6. Tako dobljeno pivo precedimo skozi gosto krpo in pustimo zoreti 3 tedne.

   Navodilo: Oglejte si erlenmajerico številka 6. Poduhajte njeno vsebino.

   Odgovorite na vprašanje:

   a) Po zorenju ima pivo drugačen, bolj aromatičen okus kot takoj po vrenju. Kaj se lahko dogaja med zorenjem piva?

Pričakovani odgovori dijakinj in dijakov

1.a Brozgi dodamo jodovico. Če se barva ob dodatku ne spremeni, škroba ni več.

1.b V epruveto bi dali malo škrobovice/škroba in dodali jodovico. Če je škrob prisoten, bo barva mešanice postala temnomodra/vijolično modra.

2.a Sladici bi dodali kvas in opazovali dogajanje. Če iz mešanice ne bi izhajal plin/CO_2, je količina sladkorja premajhna za začetek vrenja.

2.b Kontrolnih poskusov bi lahko opravili več. Kvas bi dali v znano raztopino sladkorja./ Kvas bi dali v sladico, ki bi ji dodali sladkor.

2.c Hipotezo bi potrdili naslednji rezultati. V raztopini sladkorja bi vrenje poteklo./V sladici z dodanim sladkorjem bi vrenje poteklo.

4.a Kvasovke bi zaradi visoke temperature propadle./Beljakovine v kvasovkah bi denaturirale in vrenje ne bi poteklo.

4.b Kvasovke so bile mrtve/neaktivne.

5.a Iz posode ne izhajajo več mehurčki./ Nad tekočino ni več pen.

5.b V pivu sta bila CO_2, alkohol, število kvasovk se je povečalo.

5.c Kvasovkam je zmanjkalo maltoze, zato niso imele več hrane, da bi opravljale vrenje./Količina alkohola se je povečala, alkohol je strupen tudi za kvasovke in vrenje je prenehalo./V pivu se je zaradi CO_2 spremenil pH. Encimi v kvasovkah zaradi spremembe pH niso več delovali ali pri spremenjenem pH kvasovke niso več delovale.

6.a Med zorenjem v pivu med seboj reagirajo snovi, ki so nastale med vrenjem, in pri tem nastanejo nove spojine, ki dajejo drugačen okus. /Iz piva izhlapevajo nekatere snovi, kar spremeni pivu okus.

Refleksija

Eksperiment Priprava piva izvajam redno že več kot 15 let. V tem obdobju sem preizkusila različne metode in oblike predstavitve. Celostna predstavitev Priprave piva kot biotehnološkega procesa v obliki demonstracije se je doslej izkazala kot najuspešnejša in najučinkovitejša metoda. Dijakinjam in dijakom omogoča celosten vpogled v biotehnološki proces in praktični pomen uporabe različnih oblik teoretičnega znanja: od uporabe indikatorjev do pomena vzdrževanja ustrezne temperature za delovanje encimov. Eksperiment sem uporabila tudi kot ponazoritev pri predstavitvi delovanja encimov, pri predstavitvi procesa alkoholnega vrenja, pri razlagi procesov kalitve semen in pri pomenu kvasovk za človeka. V obliki, kot je predstavljen, ga uporabljam kot prikaz biotehnološkega procesa pri izbirnem programu Biotehnologija in mikrobiologija. Uporabim ga kot pripravo na projektno delo, pri katerem morajo dijakinje in dijaki samostojno doma ali v šoli izvesti enega od biotehnoloških procesov. Eksperiment je predstavitev biotehnološkega procesa in razlaga uporabljenih metodologij in laboratorijskih tehnik. Dijakinje in dijake zelo motivira. Pogosto jih zanima, če bi po predstavljenem receptu lahko pivo naredili doma. Ker je recept preizkušen kot recept za male pivovarne, je to seveda mogoče. Običajno sledijo vprašanja, kje se kupi slad, hmelj, ali lahko uporabijo pekovski kvas iz trgovin. Večinoma so presenečeni, ko izvedo, da je kvas stranski proizvod izdelave piva. Eksperiment radi izvedejo, čeprav se jim najprej zdi povezovanje z metodami laboratorijskega dela in načrtovanja poskusa »brez zveze«. Toda pri predstavitvi lastnih projektov priznajo, da so pri eksperimentu dobili vpogled v povezavo teoretičnega znanja s prakso. To jim zelo pomaga pri razumevanju presnovnih procesov in predstavitvi projekta. Pri izvedbi je zelo pomembna velikost skupine. Najlažje je eksperiment izvesti v skupinah do 16 učencev. V večjih skupinah je težko ohraniti pregled nad delom vseh dvojic.

Eksperiment omogoča uspešno ponovitev laboratorijskih tehnik in veščin. Posebej pomaga dijakinjam in dijakom pri oblikovanju razprav v poročilih o eksperimentih. Dijakinje in dijaki po opravljenem in predstavljenem projektu povedo, da so si pomagali pri oblikovanju poročila.

Za dijakinje in dijake, ki še ne obvladajo miselnih procesov povezovanja, je eksperiment težavnejši, saj se naenkrat srečajo s celo vrsto procesov, ki jih morajo povezati: od kalitve semen, delovanja encimov do značilnosti hmelja, kvasovk in samega presnovnega procesa alkoholnega vrenja. Zato jim eksperiment omogoča razvijanje miselnih procesov povezovanja in celostnega razumevanja življenja. Dijakinje in dijake običajno preseneti kompleksnost procesa. Občudujejo znanje starih civilizacij, ki so postopek razvile. Pogosto sprašujejo še o drugih različicah piva, za katere slišijo iz medijev, kot je južnoameriška čiča (pivo iz koruze) in podobno.

Priporočena gradiva:

1 *Devetak, B., Devetak, D., Tome, D., Vrezec, A., Belušič, G., Žunko, B. (2011). Biologija v gimnaziji. Izbirni del – vedenje živali, Biotehnologija in mikrobiologija, Človek in naravni viri, Biološke osnove življenja. Ljubljana: DZS.*

2 *Rutar Ilc, Z. (2003). Pristopi k poučevanju, preverjanju in ocenjevanju. Ljubljana: Zavod RS za šolstvo.*

3 *Recept za pivo pridobljen na Inštitutu za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije, Cesta Žalskega odreda 1, Žalec leta 1997.*

2.2.3 GSO – Skrivnosti tropskega deževnega gozda

Nada Udovč - Knežević, BIC - Ljubljana; Gimnazija in veterinarska šola
Dr. Miomir Knežević, Biotehniška fakulteta Ljubljana, študij Biotehnologija

Povzetek

Ta projekt je namenjen predvsem dijakom, ki s sklopom vaj, predavanj in sklepno okroglo mizo spoznajo sodoben biotehnološki postopek in ga na podlagi pridobljenega teoretskega znanja tudi izvedejo. Bistvo tega postopka je pridobivanje rekombinantnega GFP (green flourescent protein) s pomočjo gensko spremenjene E. coli. GFP pri teh vajah nastopa v vlogi novega zdravila. Dijaki z vajami simulirajo celoten biotehnološki postopek in spoznajo ključne razvojne stopnje ustvarjanja novega zdravila, od ideje do produkta, na koncu je vključeno tudi testiranje zdravila. Soprijemajo se z etičnimi dilemami in spoznavajo različne pravne in tudi ekonomske vidike, ki nastajajo med procesom dajanja zdravila na trg.

Čas izvedbe dejavnosti

- Uvodno motivacijsko predavanje zunanjega predavatelja (dve uri)
- Izpeljava praktičnega dela – vaje (sedem ur)
- Sklepno predavanje zunanjega predavatelja (dve uri)
- Okrogla miza (ena ura)

Povezava z učnim načrtom biotehnologija

- Molekularna biologija
- GSO
- Biokulture
- Pripravljalni procesi v biotehnologiji (»scale up«)
- Procesi za izolacijo produkta (»down stream«)
- Primeri biotehnoloških postopkov (farmacija, medicina, veterina)
- Zagotavljanje in preverjanje kakovosti
- Biotehnologija in družba

Medpredmetne povezave

- *laboratorijske vaje (biotehnologija):* uvod v varno eksperimentalno delo v biotehnološkem laboratoriju
- *biologija:* zgradba in delovanje celice, biologija celice, geni in dedovanje, biotehnologija in mikrobiologija, ekologija, človek in naravni viri, kako deluje znanost

- *kemija:* zgradba molekul organskih spojin in njihov pomen, zgradba in lastnosti izbranih organskih spojin v okolju in bioloških sistemih, povezovanje delcev (gradnikov)
- *fizika:* merjenje, fizikalne količine in enote
- *sociologija*: odločanje v skupnosti, izzivi sodobnega sveta, množični mediji in komunikacija, znanost – družbeni razvoj in ekološka vprašanja
- *okoljska vzgoja*: okolje in človek - ustrezno ravnanje s snovmi in odlaganje odpadkov
- *matematika*: statistika
- *informatika:* programska oprema, računalniška omrežja (svetovni splet), obdelava podatkov, predstavitev informacij
- *slovenščina*: razvijanje zmožnosti kritičnega sprejemanja in tvorjenja govornih neumetnostnih besedil (predstavitev, govorni nastop, poročilo ...)

Uvod

Sklop vaj z naslovom »Biotechnology Explorer« je bil osnova za našo priredbo nekaterih izmed njih in prilagoditev slovenskemu učnemu načrtu pri predmetu Biotehnologija za tehniško gimnazijo. Najbolj slikovit in didaktično učinkovit del sklopa je skupina eksperimentov s skupnim naslovom »Skrivnosti deževnega pragozda«, ki na več zahtevnostnih nivojih približa dijakom razvoj rekombinantnega zdravila na modelu zeleno fluorescirajoče beljakovine, ki jo v naravi dobimo v hidrozojski meduzi *Aequorea victoria*. Mutiran gen, ki ga uporabljamo pri vajah, je stabilnejši od nativnega in omogoča nazoren prikaz zahtevnih molekularno bioloških procesov. Uporaba sodobne tehnologije je za učence vabljiva in jih pritegne, tako da se počutijo zelo kreativne, še posebej ob zaključevanju vaje, ko dobijo nalogo, da se prelevijo v enega od deležnikov v procesu sodobne medicine in preko okrogle mize argumentirano diskutirajo. Tako se s pridobljenim znanjem naučijo pogajati se in povečevati empatijo. Zunanji sodelavci iz »realnega življenja« so navzoči pri uvodnem predavanju, kjer motivirajo dijake, in na koncu, ko pomagajo pri organizaciji okrogle mize ter predstavijo problematiko kliničnih študij.

Skrivnosti deževnega pragozda – zgodba življenja

Nekaj dejstev

- Amazonski pragozd pokriva več milijonov kvadratnih kilometrov. Če bi bila *Amazonija* država, bi bila *9. največja* na svetu.
- Deževni pragozd propada s hitrostjo *10.000 m^2 na sekundo.* To pomeni *320.000 km^2* na leto ali površino *Floride*.
- Deževni pragozd pokriva samo *6 odstotkov površine* Zemlje, toda tu živi več kakor *50 odstotkov vseh rastlin in živali*.
- Na *enem hektarju* tropskega deževnega pragozda najdemo *750 različnih drevesnih* vrst in *1500 vrst višjih rastlin*.

- Znanstveniki so odkrili, da izvlečki *3000 rastlinskih vrst* delujejo proti *rakastim* celicam. *70 odstotkov* jih je samo v tropskem pragozdu.
- Po mnenju nekaterih znanstvenikov je pred *500 leti* na območju Amazonke živelo približno 10 milijonov indijancev. Danes jih tam živi manj kakor *200.000*.

Zgodba

Nekega vročega vlažnega večera se je skupina mladih odpravila raziskovat obronke amazonskega pragozda v bližini vasi, kjer so dopustovali. Spoznali so, da je pragozd poln skrivnostnih zvokov, vonjev in živih bitij. V bližini naselja so srečali starega šamana, ki jih je popeljal na izlet po pragozdu. Ob tabornem ognju jim je pripovedoval zgodbe o življenju Indijancev in njihovem sožitju z naravo. Pokazal jim je največjo skrivnost – zelen svetleč grm, ki je imel zdravilne učinke, posebej za hude oblike raka. Z njim je dolga leta uspešno zdravil pleme, pred njim pa že generacije drugih šamanov. Rastlina je rasla le na ozkem območju porečja Amazonke. Generacije staroselcev so jo skrbno varovale.

Po vrnitvi domov so na srečanje kmalu pozabili, toda čez nekaj let je eden od fantov zbolel za neozdravljivo obliko raka. Zahodna medicina je dvignila roke in ga prepustila usodi. Prijatelji so se spomnili šamana in na deževni pragozd v porečju Amazonke. Odpravili so se tja, toda na njihovo razočaranje je bil pragozd uničen, Indijanci razseljeni, šaman mrtev, avtocesta pa je uničila zadnje nahajališče zdravilne rastline. Žalostni so se vrnili domov in pričakovali so le še smrt prijatelja. Eden od njih se je spomnil, da je v zamrzovalnik shranil nekaj listov skrivnostne rastline. Na žalost njihova količina ni zadoščala za izdelavo zdravila. Študentje so zamrznjene liste odnesli v Cold Spring Harbour, kjer jim je iz njih uspelo izolirati gen za zdravilni zeleni protein in ga vnesti v bakterije. Tako jim je s pomočjo genskega inženiringa uspelo pridobiti dovolj zdravila, da so ozdravili mladega fanta in postavili novo zdravilo na trg ter tako pomagali milijonom bolnikom. Molekularna biologija, genski inženiring in sodobna biotehnologija so tako omogočili rešitev veliko ljudi in že izumirajočih živih bitij, ki bi jih človeški pohlep in neodgovoren odnos do narave lahko izbrisala za vedno.

Biološke osnove

Genski inženiring je močno orodje v rokah sodobnih biotehnologov. Metode in tehnike molekularne biologije omogočajo pomnoževanje določenih genov in njihov vnos v gostujoči organizem. Kakor je splošno znano, je bakterija *Escherichia coli* »vlečni konj« sodobne biotehnologije, saj je vanjo z relativno enostavnimi in cenenimi tehnikami lahko vnesti tuj gen in izraziti želeno beljakovino v veliki količini. Ker je večina beljakovin več kot zgolj primarna sekvenca aminokislin, bakterijska celica ni najprimernejša za izražanje gliko- in lipoproteinov ter drugih beljakovin, ki zahtevajo post-translacijske modifikacije. Modelna beljakovina GFP, ki jo uporabljamo pri vaji Skrivnosti deževnega gozda, je relativno enostavna in stabilna beljakovina. Zeleno svetlikajoči se protein (»green fluorescence protein« - GFP) v naravi dobimo v meduzi *Aequorea victoria*. Za raziskovanje strukture GFP bi morali žrtvovati več tisoč osebkov, tako pa lahko z relativno enostavno gensko manipulacijo in laboratorijsko bakterijsko kulturo pridobimo zadostno količino biološkega materiala.

Plazmid – struktura pGLO

Plazmid je krožna molekula DNA, ki izvira iz bakterij in se v njih neodvisno razmnožuje in prenaša. Pogosto nosi zapis za rezistenco na antibiotike ali pa izraža encime, ki bakteriji pomagajo pri presnovi. Kloni teh bakterij uspešneje tekmujejo z drugimi organizmi za prostor v ekološki niši. Številčnost bakterij in princip selekcije omogočata hitre prilagoditve na specifične življenjske razmere. Genski inženiring izkorišča možnost intenzivnega izražanja določenih genov, tako da v plazmidu za promotorjem zamenja naravni gen z rekombinantnim. Ti kloni izražajo želeno rekombinantno beljakovino namesto naravne beljakovine.

Plazmid pGLO vsebuje gen za betalaktamazo, ki omogoča bakterijsko odpornost proti betalaktamskim antibiotikom, kamor spada tudi ampicilin. Encim betalaktamaza razgrajuje heterociklični obroč betalaktamskih antibiotikov in jih tako naredi neučinkovite. Zaradi nevarnosti razširjanja rezistence med divjimi vrstami bakterij se v molekularni biologiji uporabljajo le tisti antibiotiki, ki ne spadajo med zdravila. Regija araC je naravna promotorska regija gena za encim, ki razgradi sladkor arabinozo. Na plazmidu pGLO promotorski regiji araC sledi regija GFP, kjer je gen za zeleno svetlikajočo beljakovino. GFP je zamenjal naravni del »ara« operona, ki je kodiral encim za razgradnjo arabinoze.

Slika 1: Plazmid pGLO. Vir: Biotechnology Explorer (BIO-RAD) Secrets of the Rain Forest (Catalog Number 166-0006-EDU).

Regulacija transkripcije – arabinozni operon

Promotor araC spada med promotorje, ki so dejavni le ob prisotnosti efektorske molekule v nasprotju s promotorji, ki so stalno dejavni. Izvirni gen zamenjamo z želenim rekombinantnim in tako lahko z dodajanjem efektorske molekule dosežemo izražanje rekombinantnega proteina – v našem primeru GFP. Arabinoza v gojišču se veže na promotor araC in mu tako spremeni strukturo, da omogoči vezavo polimeraze RNA in posledično transkripcije gena za promotorjem (glej sliko na strani 180). Ob odsotnosti sladkorja arabinoze se transkripcija prekine. Bakterijske kulture, ki izražajo GFP, res zelo intenzivno zeleno svetijo ob osvetlitvi z UV-svetlobo.

Transformacija – razlaga posamezne stopnje

Izraz »transformacija« ima v biologiji več pomenov. Najpogosteje pomeni proces vnosa DNA (najpogosteje plazmidov) v bakterijo. Bakterije, ki so sposobne sprejeti tujo DNA, imenujemo »kompetentne bakterije«. Eden izmed najpogosteje uporab-

ljanih načinov transformacije je toplotni šok. Najprej zmanjšamo fluidnost celične membrane z inkubacijo na ledu. Celično suspenzijo, ki vsebuje rekombinantno DNA in kalcijev klorid, za kratek čas (približno 50 sekund) inkubiramo pri 42 °C. Hitra temperaturna sprememba povzroči povečano prepustnost membrane, tekočina vdira v celico, pozitivni kalcijevi ioni pa nevtralizirajo negativne fosfatne ostanke na DNA in fosfolipidnem sloju bakterijske membrane in tako omogočijo nemoten vstop plazmidov v celico.

Gojenje transformiranih bakterij v tekočem gojišču

Ker je temperaturni šok zelo stresen za bakterije, jih je treba potem inkubirati v mediju LB (medij Luria-Bertani) nekaj minut, da si opomorejo. Šele potem jih lahko nanesemo na agarjeve plošče, ki so narejene na osnovi medija LB, ki sta mu dodana antibiotik ampicilin in sladkor arabinoza. Medij LB vsebuje vse potrebne mikro- in makroelemente za hitro rast in delitev bakterijske kulture: ogljikove hidrate, aminokisline, nukleotide, soli in vitamine. Z dodatkom antibiotika dosežemo, da zrastejo le transformirane bakterije, z dodatkom arabinoze pa ugotovimo, kateri kloni so prevzeli plazmid, kjer poteka transkripcija gena za GFP.

Izolacija in čiščenje GFP-kromatografske tehnike

Po selekciji zeleno svetlikajočih se klonov z agarjevih plošč z dodatkom ampicilina in arabinoze in po gojenju v tekočem gojišču kulturo centrifugiramo, da odstranimo supernatant. GFP se nahaja v bakterijskih celicah, zato moramo pelet zamrzniti in odmrzniti ter obdelati z encimom lizocimom, ki razgrajuje celično steno bakterij. Lizocim je v naravi v solzah, ki tako delujejo blago baktericidno. Po centrifugiranju ohranimo supernatant, ki vsebuje GFP in še približno 4000 bakterijskih beljakovin. GFP predstavlja približno en odstotek celotnih bakterijskih beljakovin.

Hidrofobna interakcija (HIC-kromatografija) – princip delovanja

Čiščenje beljakovin pogosto poteka z uporabo kromatografskih tehnik, ki izrabljajo razlike med velikostjo, obliko in nabojem molekul. Za čiščenje GFP smo uporabili kromatografijo na podlagi hidrofobnih interakcij, ki jo pogosto imenujemo kromatografija z reverzno fazo. Pri tem postopku je pomembna razlika v hidrofobnosti beljakovin, ki jih želimo ločiti. Ob dodatku visoke koncentracije soli amonsulfata hidratacijski ovoj okoli koloidne raztopine beljakovin razpade, saj sol močneje veže molekule vode kakor beljakovina. Bakterijski lizat v visoki koncentraciji amonsulfata nanesemo na kolono, polnjeno s hidrofobnim nosilcem. Večina molekul se veže na nosilec, nekatere pa se izločijo že ob nanosu, saj so slabo hidrofobne. Kolono spiramo s pufrom s čedalje manjšo koncentracijo soli in tako iz kolone izhajajo molekule, ki so slabo vezale na nosilec zaradi svoje manjše hidrofobnosti. Na koncu postopka pri zelo nizki koncentraciji soli dobimo v pufru, s katerim smo izpirali kolono, močno hidrofoben protein GFP.

Zeleno fluorescirajoča beljakovina – njen pomen za znanost

Nobelova nagrada za kemijo 2008

Zeleno fluorescentni protein je bil odkrit že pred več kot 40 leti, toda šele leta 2008 so trije raziskovalci dobili Nobelovo nagrado za kemijo: Osamu Shimomura,

Martin Calfie in Roger Tsien. Nagrada je bila podeljena za odkritje GFP in njegovo uporabo v biologiji in medicini.

Zgodovina odkritja

Shimomura je leta 1962 izoliral protein GFP iz meduze *Aequorea victoria*, ki živi pretežno ob zahodni obali ZDA. GFP fluorescira le, če so v meduzi kalcijevi ioni in beljakovina ekvorin. Ta protein je imenoval ekvorin, prvič pa ga je uporabil za merjenje koncentracije kalcija v celici. Ob vezavi kalcija na ekvorin ta oddaja modro svetlobo. Fotone modre svetlobe ujamejo molekule proteina GFP, ki nato izsevajo fotone zelene svetlobe. Calfie je bil leta 1988 prvi, ki je GFP uporabil za testiranje jakosti promotorjev, to pomeni uporabo GFP v genskem inženiringu. Tsien pa je z usmerjenimi mutacijami pripravil več analogov GFP, ki svetijo v različnih barvah. Do zdaj je bilo objavljenih že več tisoč člankov, kjer je bil GFP uporabljen kot močno biološko orodje.

Opis naravne beljakovine in prednost mutirane oblike

GFP je protein sodčkaste oblike, ki ga sestavlja 238 aminokislin, ki ob prisotnosti kalcija (Ca^{2+}) in izpostavljanju kratkovalovni svetlobi (UV ali modri, najbolj učinkovita je bližnja UV svetloba z valovno dolžino 395 nm) močno sveti v zelenem delu svetlobnega spektra. Prvi rekombinantni GFP za študije so naredili leta 1994. Bil je še zelo občutljiv, posebej še na pH, kloride in močno svetlobo. Leta 1995 pa so s točkasto mutacijo dosegli njegovo večjo stabilnost in za več kot 30-krat povečali oddajanje zelene svetlobe. Ugotovili so, da sodčkasta struktura GFP v sredini skriva kromofor, ki je odgovoren za svetilnost, barva pa je odvisna od števila dvojnih vezi v kromoforu.

Princip fluorescence

Pravi biološki vzroki bioluminiscence in fluroescence pri meduzi še niso znani. Znan pa je princip delovanja. GFP se izraža skupaj z beljakovino ekvorin v drobnih granulah okoli roba klobuka. Beljakovina ekvorin oddaja ob prisotnosti kalcijevih ionov šibko modro svetlobo. Modre fotone absorbira in ponovno izseva GFP, pri tem procesu pa se nekoliko zmanjša njihova energija. Zato imajo izsevani fotoni daljšo valovno dolžino in niso modre, temveč zelene barve. Z mutiranjem proteina GFP so dosegli, da različice GFP lahko izsevajo fotone mnogo različnih barv od zelene do rdeče. Različice GFP, izražene v različnih delih celic in tkiv, tako omogočajo sledenje fizioloških procesov v realnem času »in-vivo«.

Uporaba GFP v biologiji in medicini

Zaradi robustnosti in prikladnosti je GFP zelo primeren tako na molekularni kakor tudi celični ravni ali pa celo na ravni organizma v pogojih »in-vivo«. Mutirane oblike proteina GFP imajo veliko odpornost in stabilnost, saj je kromofor dobro zavarovan v tulcu, ki ga tvori 3D-oblika beljakovine. Sam protein je majhen in ne moti osnovne presnove evkariontskih celic. Meritve migracije tumorskih celic v živalskih modelih, regulacija izražanja genov in znotrajcelični prenos v realnem času so samo ene od pomembnih raziskav, ki brez beljakovine GFP ne bi bile mogoče.

Klinične študije so bistvo raziskovalnega dela v medicini

Po intenzivnem laboratorijskem raziskovanju, testiranju na živalskih modelih in po dolgotrajnem komuniciranju z regulatornimi organi je potencialno zdravilo pripravljeno za testiranje na ljudeh. To je ključen proces razvoja zdravila, saj jih od nekaj tisoč mogočih zdravil, testiranih v predkliničnem raziskovanju, le nekaj doseže prehod v kliniko. Dobra klinična praksa, angleško imenovana »good clinical practice« ali GCP je plod širokega mednarodnega sodelovanja, ki temelji na Helsinški deklaraciji in še več drugih dokumentih zaradi varstva bolnikovih pravic. V preteklosti je zaradi velike želje po zaslužku prišlo do večjih zlorab teh pravic. Najbolj znan je primer talidomida, ki je v šestdesetih letih 20. stoletja povzročil ogromno hudih poškodb na še nerojenih otrocih. O upravičenosti raziskovanja na ljudeh najprej odloča etična komisija, potem pa je treba celotno dokumentacijo še registrirati na ustreznih agencijah. V ZDA je to FDA (Food and Drug Administration), v Evropski uniji pa je njen ekvivalent EMA (European Medicines Agency). V Sloveniji ureja to področje Javna agencija za zdravila in medicinske pripomočke (JAZMP).

Klinično preizkušanje zdravil je drag in zamuden proces, ki si ga lahko privoščijo le največja farmacevtska podjetja, saj od ideje do tržišča večinoma preteče več kakor 12 let, porabi pa se skoraj milijarda evrov.

Razvoj novega zdravila je razdeljen v predklinični in klinični del. Predklinika temelji na laboratorijskih poskusih in študijah na živalih. Izsledki so znanstvena osnova za odobritev načrta kliničnih raziskav – to je procesa, kjer so kot predmet raziskave udeleženi ljudje. Vsi udeleženci morajo podpisati dokument, tako imenovano informirano privoljenje, kjer zdravnik podrobno in razumljivo razloži princip klinične raziskave. Sodelovanje v študiji mora biti prostovoljno in vsak mora imeti možnost kadar koli izstopiti iz nje. Cel postopek delimo v štiri stopnje. Prva stopnja kliničnih raziskav se osredotoča na varnost zdravila in morebitne stranske učinke, sam učinek na zdravljenje ni pomemben, saj v študiji sodeluje malo zdravih prostovoljcev. To število večinoma ne presega 50, saj tako zmanjšajo tveganje za zdravje. Na drugi stopnji sodelujejo pacienti, razdeljeni v smiselne skupine, ki morajo dokazati potencialne učinke zdravila. Končni rezultat mora biti jasen odgovor o terapevtski vrednosti zdravila in načinu uporabe. Skupine večinoma tvori od 20 do 50 bolnikov, tako da končno število običajno ne presega 200 udeležencev. Najpomembnejša stopnja je tretja, saj je treba dokazati, da zdravilo učinkuje tudi na statistično večjem številu bolnikov. To število je lahko tudi nekaj tisoč, raziskava pa po navadi poteka v več centrih več let. Po uspešno končani tretji stopnji je zdravilo nared za trženje, toda farmacevtska podjetja morajo izvajati še tako imenovano »pomarketinško stopnjo« – to je četrto stopnjo. Takrat spremljajo učinke zdravila, potem ko je na tržišču več let. O tem morajo poročati zakonodajnim organom in izsledke javno objaviti.

Izvedba

Sklop Skrivnosti tropskega deževnega gozda izvajamo v četrtih letnikih tehniške gimnazije pri predmetih biotehnologija in laboratorijske vaje. Pri izpeljavi sklopa sodelujejo zunanji predavatelj, profesor in asistent (laborant). Za izvedbo vaj potrebujemo pripomočke in material iz seta: Biotechnology Explorer (BIO-RAD) Secrets of the Rain Forest (Catalog Number 166-0006-EDU).

Na podlagi osemletnih izkušenj lahko z gotovostjo potrdimo, da je ta komplet vaj, ki smo ga nadgradili in prilagodili našim razmeram, didaktično in pedagoško naj-

boljša predstavitev sodobnega biotehnološkega problema (zgodba iz resničnega življenja). Dijaki praktično spoznajo proizvodnjo rekombinantnega »zdravila« in simulirajo celoten proces nastajanja novega zdravila: od ideje do produkta, testiranje zdravila. Ob tem se spoprimejo z etičnimi dilemami in spoznajo pravne in ekonomske vidike pri dajanju zdravila na trg.

Organizacija pouka

Zunanji mentor sodeluje na začetku z uvodnim motivacijskim predavanjem, kjer dijakom predstavi problem naloge in jih seznani s teoretskimi osnovami praktičnega dela. Nato dijaki pod vodstvom profesorja in ob pomoči asistenta opravijo sklop vaj. Pri tem se razred deli v dve skupini, vaje pa izvajajo dijaki v dvojicah. Ob koncu praktičnega dela se ponovno vključi zunanji predavatelj, ki razloži potek in pomen predkliničnih in kliničnih študij. Dijakom predstavi etične, pravne in ekonomske vidike in jih pripravi na okroglo mizo. Dileme, ki se pojavljajo ob vstopu novega zdravila na tržišče, dijaki predstavijo z igro vlog in okroglo mizo.

Časovni potek

1. in 2. ura**: **Uvod v sklop vaj Skrivnosti tropskega deževnega gozda (predavanje)
Dijaki:

- spoznajo problem naloge;
- seznanijo se z biotehnološkim (BTH-) postopkom, s katerim bodo pridobili rekombinanten produkt (protein GFP) in bo pri vaji imel vlogo »našega novega zdravila«;
- osvežijo in nadgradijo teoretično znanje molekularne biologije in genskega inženiringa.

3. ura**: **Vaja 1: Kloniranje
Dijaki:

- spoznajo pojme: bakterijska knjižnica, celično kloniranje, selektivno gojišče;
- iz bakterijske knjižnice nacepijo gensko spremenjene bakterije *E. coli* na selektivno gojišče z ampicilinom in arabinozo;
- upoštevajo pravila dobre mikrobiološke prakse in navodila za delo z GSO;
- odgovorijo na vprašanja iz internega gradiva (skripta).

4.in 5. ura**: **Vaja 2: Pregled kolonij in precepljanje v tekoče gojišče
Dijaki:

- z UV-lučko pregledajo kolonije v petrijevki;
- sklepajo, da bakterije, ki so sprejele gen za GFP, pod UV-svetlobo svetijo zeleno;
- precepijo eno zeleno kolonijo v tekoče selektivno gojišče;
- ugotovijo, da s tem postopkom simulirajo pomnoževalni proces (»scale up«).

6. in 7. ura: Vaja 3: Prva faza čiščenja produkta GFP
Dijaki:

- s centrifugiranjem ločijo bakterije od gojišča;
- bakterijam dodajo lizocim in jih shranijo v zamrzovalnik do naslednje vaje;
- razložijo vlogo lizocima in zamrzovanja pri čiščenju proteina;
- odgovorijo na vprašanja iz internega gradiva (skripta).

8. in 9. ura: Vaja 4: Druga faza čiščenja proteina GFP s HIC-kromatografijo
Dijaki:

- centrifugirajo vsebino, ki je nastala po prvem čiščenju;
- sklepajo, da GFP obstaja v supernatantu;
- protein GFP ločijo s HIC-kromatografijo;
- razumejo princip ločevanja snovi pri HIC-kromatografiji;
- odgovorijo na vprašanja iz internega gradiva (skripta).

10. in 11. ura: Predklinične in klinične študije (predavanje)
Dijaki:

- spoznajo pot od zdravilne učinkovine do zdravila;
- seznanijo se s problemi in dilemami, ki nastajajo ob dajanju novega zdravila na trg.

12. ura: Okrogla miza
Dijaki:

- izberejo eno od dilem iz internega gradiva (skripta);
- se razdelijo v štiri skupine (1. skupina: predstavniki bolnikov z rakom, 2. skupina: JAZMP – Javna agencija za zdravila in medicinske pripomočke, 3. skupina: društvo proti mučenju živali, 4. skupina: farmacevtska tovarna);
- določijo mediatorja – voditelja, ki opredeli problem izbrane dileme in usmerja pogovor med skupinami;
- soočajo mnenja, zagovarjajo in argumentirajo svoja stališča;
- skušajo najti rešitve, ki bi bile sprejemljive za vse interesne skupine.

Didaktični pristopi

S sklopom Skrivnosti tropskega deževnega gozda dijakom nazorno približamo abstraktne vsebine molekularne biologije in genetike ter genskega inženiringa (tehnologija rekombinantne DNK). K temu pripomore tudi uporaba različnih sodobnih oblik oz. metod poučevanja:

- avtentično učenje/avtentični pouk (reševanje resničnega življenjskega problema oz. naloge)

- problemsko učenje
- aktivne metode pouka (igre vlog, okrogla miza)
- veliko praktičnega dela – vaj
- sodelovalno poučevanje

Rezultati dejavnosti in doseženo znanje

- Uspešno izpeljan biotehnološki postopek z izoliranim rebombinantnim proteinom (protein GFP).
- Poznavanje problema izbrane dileme, sopostavljanje mnenj in argumentirano zagovarjanje svojih stališč.
- Preverjanje znanja je sproti vključeno v samo eksperimentalno delo. Pri vsaki vaji dijaki odgovarjajo na vprašanja iz internega gradiva. Na koncu sklopa rešijo naloge iz delovnega lista.
- Vsebine sklopa so vključene v pisno preverjanje znanja (test).

Gradivo za učitelje

- Priročnik iz seta: Biotechnology Explorer (BIO-RAD) Secrets of the Rain Forest (Catalog Number 166-0006-EDU)
- Vsebine iz uvoda Skrivnosti tropskega deževnega gozda (povzeto po uvodnem in sklepnem predavanju doc. dr. Miomirja Kneževića)

Didaktični pripomočki in gradivo za dijake

- Interno gradivo (skripta)
- Pripomočki in material za izvedbo vaj iz seta: Biotechnology Explorer (BIO-RAD) Secrets of the Rain Forest (Catalog Number 166-0006-EDU)
- Učni list za dijake
- Predstavitev v PowerPointu in izročki

Refleksija

Refleksija učitelja

Opisana organizacija pouka se je v osemletni praksi izkazala za učinkovito. Predavanje za cel razred izpelje na začetku in ob koncu sklopa zunanji sodelavec. Predavatelj z zanimivo in realistično zgodbo ter dobrim poznavanjem obravnavane tematike prilagojene srednješolski ravni, zelo motivira dijake za izvedbo praktičnega dela. Vaje potekajo v mikrobiološkem laboratoriju, za katerega smo na Ministrstvu za okolje in prostor pridobili dovoljenje za delo z GSO. Pri vajah se razred deli v dve skupini, dijaki delajo v dvojicah. Pred prvo vajo profesor in asistent dijake seznanita s postopki za varno delo z GSO in s tem, kako ravnati z biološko nevarnimi (»biohazard«) odpadki. Nato dijaki podpišejo Izjavo o varnem delu z GSO. V štirih vajah izvedejo ves biotehnološki postopek. Ob koncu praktičnega dela opažam, da dijaki bolje razumejo nekatere abstraktnejše vsebine, kot so npr. genska regulacija

(ekspresija gena): na primeru arabinoznega operona spoznajo, da se gen za GFP v *E. coli* izrazi le, če sta v gojišču ampicilin in arabinoza, ki deluje kot induktor.

Prednost teh vaj je tudi, da se lahko učitelj naveže na številne vsebine tako pri predmetu biotehnologija (glej povezave z učnim načrtom), kot pri biologiji, ki so navedeni v preglednici 1.

Preglednica 1: Primeri povezave z učnim načrtom za biologijo

Pojem	**Povezave z vsebinami učnega načrta za biologijo**
E.coli	prokariontska celica, cepljivke, konjugacija, odpornost proti antibiotikom ...
protein GFP	zgradba beljakovin, intracelularni produkt, mehanizem fluoresciranja, različne barve fluoresciranja proteina GFP, ki so posledica mutacij gena, uporaba proteina GFP, bazične in aplikativne raziskave ...
lizocim	encimi
arabinozni operon	genska regulacija, lac-operon, trp-operon, izraženje gena na ravni transkripcije ...
gensko spremenjeni organizmi (GSO)	gensko spremenjeni mikroorganizmi, gensko spremenjene rastline, gensko spremenjene živali; biološka rekombinantna zdravila, kako rešiti ogrožene vrste in ohraniti biodiverziteto, onesnaževanje GSO, prednosti in pomanjkljivosti genske tehnologije ...

Izvedba vaj zahteva od učitelja in asistenta priprave pred vajami: priprava in razlivanje selektivnega gojišča v petrijevke in epruvete, rehidracija bakterijske knjižnice, priprava HIC-kolon za kromatografijo. Pri pripravi in izvedbi vaj moramo dosledno upoštevati navodila za varno delo z GSO in pravilno odstranjevanje biološko nevarnih (»biohazardnih«) odpadkov. Vse, kar pride v stik z gensko spremenjeno *E.coli*, damo v posodo iz nerjavečega jekla, napolnjeno z detergentom. Po končanih vajah to avtoklaviramo in s tem bakterije uničimo.

Pri vajah za skupino 16 dijakov potrebujemo pripomočke in material iz seta: Biotechnology Explorer (BIO-RAD) Secrets of the Rain Forest (Catalog Number 166-0006-EDU), ki je za naše razmere razmeroma drag. Stroške lahko zmanjšamo, če dokupimo le posamezne komponente iz seta (»refill pack«).

Po končanih vajah sledi *okrogla miza.* Dijaki se sami razdelijo v štiri interesne skupine in ob pomoči učitelja izberejo mediatorja. Po navadi je to dijak, ki je dober in dinamičen govornik in je tudi strokovno dobro podkovan ter ima ugled pri sošolcih. Dijaki izberejo eno od dilem v internem gradivu. Največkrat pa skupaj z mediatorjem sooblikujejo svojo verzijo, ki je sinteza posameznih delov ponujenih dilem v skripti. Izražanje mnenj je lahko zelo burno in čustveno. Zanimivo je to, da so dijaki pri argumentiranju svojih stališč in podajanju rešitev dileme zelo inovativni. Včasih se zgodi, da v eni uri interesne skupine ne najdejo rešitve in ne pride do kompromisa. V tem primeru spretni voditelj sklene, da je tema prevroča in bo potrebno še kakšno soočanje. V internem gradivu je tudi obrazec za ocenjevanje dijakov pri okrogli mizi, ki pa ga na naši šoli za zdaj še nismo uporabili.

Interno gradivo, ki smo ga prevedli iz angleščine in ga nekoliko predelali, je na določenih mestih na prenizki strokovni ravni. To pomanjkljivost zdaj z dodatno razlago nadomestita učitelj in zunanji sodelavec s predavanji. Načrtujemo nadgraditev tega dela in njegovo prilagoditev učnemu načrtu za biotehnologijo.

Refleksija dijaka

Ob koncu pouka v četrtih letnikih vsako leto izvedem anonimno anketo »Biotehnologija – vaje iz molekularne biologije« (priloga 3). Iz odgovorov dijakov lahko povzamemo ugotovitve: poleg vaje »prstni odtis« DNK (DNA fingerprinting), jim je najbolj všeč sklop vaj Skrivnosti tropskega deževnega gozda, ker:

- je drugačen pristop k poučevanju (zanimivi predavanji strokovnjaka, veliko vaj, okrogla miza);
- so vaje zanimive, nazorne in aktualne (Leta 2008 je bila za odkritja in uporabo proteina GFP pri raziskavah podeljena Nobelova nagrada za kemijo. To še poveča zanimanje dijakov, da aktivno sooblikujejo pouk. Nekaj dijakov je letos pripravilo predstavitve o proteinu GFP - v programu MS-Power point;
- po opravljenih vajah bolje razumejo abstraktne vsebine molekularne biologije;
- spoznajo delo z GSO in ravnanje z biološko nevarnimi (»biohazardnimi«) odpadki;
- aktivno sodelujejo v sooočenjih pri okrogli mizi;

Večina anketirancev bi tako obliko vaj priporočila bodočim maturantom.

Literatura in viri

1 *Bio-Rad (2010). Biotechnology Explorer (BIO-RAD) Secrets of the Rain Forest (Catalog Number 166-0006-EDU). Dostopno na: http.//www.bio-rad.com (15. 4. 2010).*

2 *Mareine Biologicol Laboratory. Dostopno na: http://www.mbl.edu/news/features/pdf/shimura_aequorin.pdf (15. 4. 2010).*

3 *Pococok, S. J. (1998). Clinical trials: a practical approach. Chishester: John Wiley and Sons Ltd.*

4 *Raintree, Wealt of the Rain forest. Dostopno na: http://www.rain-tree.com/facts.htm (17.6. 2010).*

5 *Rice University. Unconentionel Wisdom. Dostopno na: http://www-bioc.rice.edu/Bioch/Phillips/Papers/gfpbio.html (15. 4. 2010).*

6 *Zimmer, M. Green fluorescent protein. Dostopno na: http://www.conncoll.edu/ccacad/zimmer/GFP-ww/GFP-1.htm (15 4. 2010).*

Priloge

Priloga 1: Dijakov priročnik (skripta): Skrivnosti tropskega deževnega gozda

Priloga 2: Delovni list

Priloga 3: Anketa

Dijakov priročnik

Skrivnosti tropskega deževnega gozda

Naslov izvirne izdaje: **Biotechnology Explorer** (BIO-RAD) – Secrets of the Rain Forest (Catalog Number 166-0006-EDU)

Prevod: Jaša Žiberna

Priredba: Nada Udovč-Knežević, prof. biol.

Lektor: Marjana Mastinšek - Šuštar, prof.

1. vaja: Skrivnosti tropskega deževnega gozda

Skrivnostni zeleno fluorescentni listi

Tiša se je sprehajala po andskem pragozdu in iskala redke vrste rastlin, ko je naletela na mladega fanta Ramona. Ta ji je povedal o starem vraču, ki je poznal skrivnostne zdravilne liste. Dejal ji je, da je njegova sestra nekoč imela bolečine v trebuhu, na podlagi katerih je vaški zdravnik diagnosticiral trebušnega raka, bolečo in smrtno bolezen. Ramonova družina si ni mogla privoščiti zdravnika, zato je poiskala pomoč pri vraču, ki je naredil zarezo na roki Ramonove sestre in nanjo položil skrivnostne liste.

Čez nekaj mesecev, ko jo je ponovno pregledal vaški zdravnik, ji je povedal, da je njena bolezen ozdravljena. Ramon se je vrnil k vraču, da bi se mu zahvalil, a ga je našel zelo bolnega. Vrač je kmalu umrl in odnesel s seboj skrivnost zdravilnih listov.

Ramon je dal Tiši stekleničko z nekaj skrivnostnimi listi in odnesla jo je s seboj, ko se je vračala v Biotex, biotehnološko firmo, ki razvija nove vrste zdravil. Tam je opazila, da se pod ultravijolično svetlobo svetijo svetlozeleno. Drugi Biotexovi znanstveniki so ugotovili, da je ta svetleča snov v listih neki protein s posebnimi lastnostmi. Da bi proizvedli več tega proteina, so vzeli DNA iz listov in jih vsadili v bakterijske celice. Nekaj teh bakterij zdaj vsebuje ta posebni zeleni protein.

Biotex bo tvegal in poskusil narediti zdravilo proti želodčnem raku. Pot je dolga, saj bodo potrebovali 10 let poskusov in več kot 100 milijonov dolarjev, a možnost za razvoj zdravila in hkrati za ustvarjanje dobička je dobra. Za zdaj je v banki dovolj denarja za nekaj let razvoja, a podjetje krvavo potrebuje kakšen produkt, da bi lahko preživelo, ko bo ta vir denarja usahnil. Za konec je Tiša dobila Ramonovo pismo: njegove bolečine v trebuhu so diagnosticirali za želodčnega raka.

Vprašanja za ponavljanje

Predstavljajte si, da vas Biotex najame, da pomagate Tiši identificirati bakterije, ki nosijo gen za zeleni fluorescentni protein in za čiščenje le-tega iz bakterije. Hkrati bi sodelovali pri nadaljnjih testiranjih glede vpliva tega proteina na zdravljenje želodčnega raka. Lahko se zgodi, da bi naleteli na številne dileme, ko bi hoteli spraviti zdravilo na tržišče. Zanje bi morali najti rešitve, preden bi začeli zdravilo uspešno tržiti, npr.:

1. Kdo je Tiša in kaj dela v Andih?
2. Naštej dva problema, ki bi jih morala Biotex in Tiša rešiti.
3. Zakaj so bili geni skrivnostnih zelenih listov vsajeni v bakterijske celice?
4. Kateri namigi ti pomagajo ugotoviti, ali so bili Biotexovi znanstveniki uspešni pri vsaditvi zdravilnega proteina v bakterijske celice?

2. vaja: Skrivnosti tropskega deževnega gozda

Kloniranje

Naše telo vsebuje na tisoče proteinov, ki opravljajo veliko različnih nalog. Vsak je kodiran preko unikatnega gena, dela DNA, ki vsebuje kodo za produkcijo tega proteina. Po novih podatkih iz leta 2001 naj bi bilo v človeški celicah le 30.000 genov.

Biotexovi znanstveniki so našli v skrivnostnih listih gen za protein, ki ima terapevtske učinke za zdravljenje raka. Na slepo so razrezali DNA in vsadili vse gene iz Ramonovih listov v bakterijske celice. Samo nekatere izmed njih zdaj vsebujejo gene za protein proti raku. Te bakterije je treba najti in ji ločiti od drugih.

Najprej je treba nanesti vzorec te bakterijske knjižnice na petrijevke z gojiščem. Iz vsake bakterije na hranilni podlagi zraste bakterijska kolonija. Bakterije v isti koloniji so si genetsko popolnoma enake, pravimo, da so **kloni;** postopek (proces) pa imenujemo **kloniranje**.

Drži se naslednjega postopka za nanos bakterijske knjižnice na petrijevko.

Material in oprema delovnih mest

Dijakovo delovno mesto	**Število**
Sterilne cepilne zanke	1
Sterilno vlite agar plošče (petrijevke)	2
Flomaster	1

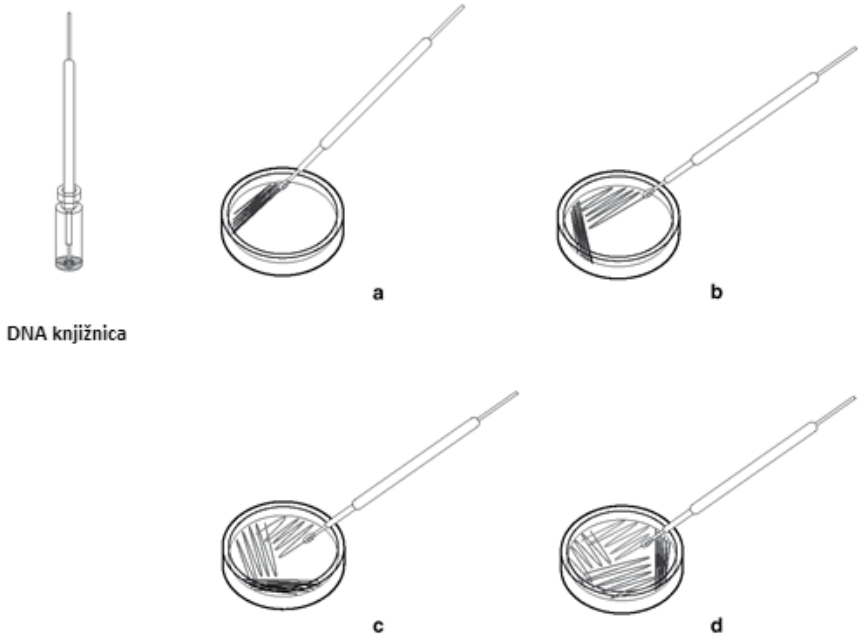
Profesorjevo delovno mesto	**Število**
Liofilizirana bakterijska knjižnica	1
Inkubator (37°C)	1

Laboratorijski postopek

1. Obrni petrijevki na glavo. S flomastrom označi dve agarni plošči z imenom skupine.
2. Za začetek nanesi na dve plošči s hranilnim gojiščem suspenzijo *E.coli* (bakterijsko knjižnico). S tem postopkom lahko iz koncentrirane suspenzije bakterij dobimo posamezne bakterijske kolonije – klone. V ugodnih razmerah (ob primerni temperaturi, vlažnosti, gojišču) se ena celica v 24 urah razdeli v milijone genetsko identičnih celic.
   a) Vstavi sterilno cepilno zanko navpično v stekleničko z bakterijsko suspenzijo. Pri tem ne nagibaj stekleničke. Izvleci palčko in namaži plošče, kot je prikazano na naslednji strani.
   Mazanje opraviš v štirih kvadrantih na vsaki plošči. Prvi nanos je namenjen razporeditvi bakterij. Palčko vlečeš sem ter tja po vsakem kvadrantu približno dvanajstkrat. Z vsakim razmazom se celice vse bolj razporedijo po plošči, kar poveča možnost, da dobimo posamezne kolonije. Cilj tolikih nanosov je uporabiti čim večjo površino plošče.
   b) Obrni ploščo za 45° in začni z drugim mazanjem. Med mazanjem pojdi v prej namazano površino približno dvakrat, potem pa gor in dol, kot je prikazano še desetkrat.
   c) Obrni ploščo in še maži.

d) Zadnjič obrni ploščo in opravi zadnje mazanje. Ponovi postopke tudi za preostalo agarno ploščo. Za obe uporabi isto cepilno zanko. Ko končaš, takoj pokrij plošči, da preprečiš okužbo.

e) Obrni plošče na glavo in jih postavi čez noč v inkubator pri 37 °C. Uporabi jih v 24 do 36 urah. Pred uporabo plošč ne shranjuj v hladilniku.



Vprašanja za ponavljanje

1. Proteini
   a) Kaj je protein?
   b) Naštej tri vrste proteinov, ki jih najdemo v našem telesu.
   c) Razloži, kakšen je odnos med geni in proteini.
2. S svojimi besedami razloži kloniranje.
3. Opiši, v čem se bakterije v posamezni koloniji razlikujejo od tistih v bakterijski knjižnici.
4. Opiši, kako bi lahko izoliral iz bakterijskih celic protein, ki zdravi raka.

3. vaja: Skrivnosti tropskega deževnega gozda

Pregled

Bakterijske kolonije, ki so zrasle v petrijevkah, zdaj lahko pregledaš pod UV-lučjo. Lahko se spomniš, da je Tiša pod ultravijolično lučjo opazila nekaj posebnega na Ramonovih listih.

Izberi dve koloniji bakterij: eno, ki vsebuje gen za zelenofluorescentni protein (zeleno kolonijo), in drugo, ki tega gena nima (belo kolonijo). Obe nacepi v epruvete s tekočim hranilnim gojiščem in jih pusti čez noč, da se razmnožijo.

Material in oprema delovnih mest

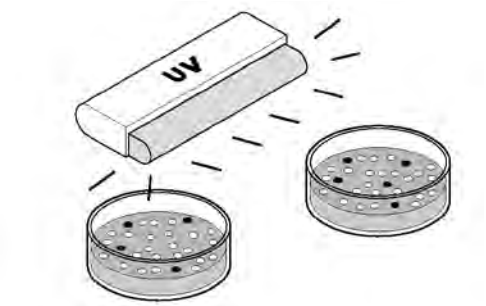
Dijakovo delovno mesto	**Število**
Petrijevke z bakterijskimi kolonijami	2
Cepilne zanke	2
Epruvete – z 2 ml tekočega gojišča	2
Flomaster	1
Stojalo za epruvete	1

Profesorjevo delovno mesto	**Število**
Inkubator z mešalom	1
UV-luč	1 ali več

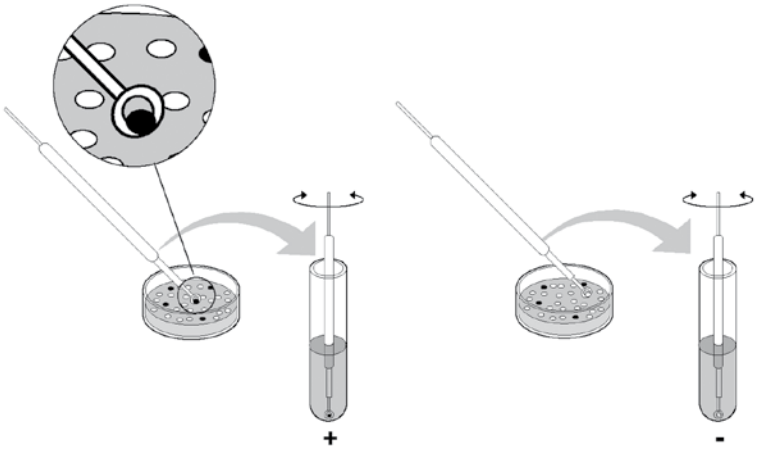
Laboratorijski postopek

1. Iz inkubatorja vzemi z bakterijami preraščene petrijevke in jih preglej. Najprej uporabi normalno sobno svetlobo, potem pa jih preglej še pod UV-lučjo v zatemnjenem delu laboratorija. Zapiši vsa opažanja.

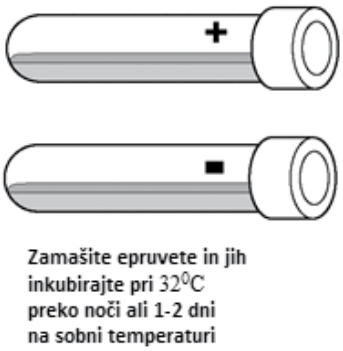
   Ne izpostavljaj se UV-luči, da se ne pojavijo poškodbe oči ali kože. Nikoli ne glej neposredno vanjo in nosi zaščitna očala.



2. Identificiraj nekaj zelenih kolonij, ki se ne dotikajo drugih kolonij na eni plošči. Obrni ploščo na glavo in obkroži nekaj zelenih kolonij. Na drugi plošči identificiraj in obkroži nekaj belih kolonij, ki so prav tako ločene od preostalih kolonij.
3. Vzemi dve 15-milimetrski epruveti, ki vsebujeta 2 ml tekočega gojišča, in označi eno epruveto s + in drugo z –. S konico sterilne cepilne zanke se nežno dotakni obkrožene zelene kolonije in zajemi te celice, ne pa tudi velikih kosov agarja. Potopi konico v + epruveto. Zavrti palčko med prsti, da odstraniš z nje vse celice. Z novo sterilno palčko ponovi postopek za posamezno belo kolonijo, le da jo potopi v – epruveto. Zelo je pomembno, da izbereš celice ostro ločene kolonije od drugih kolonij.



4. Zamaši epruvete in jih postavi v mešalec ali inkubator. Pusti jih inkubirati 24 ur pri 32 °C ali do 2 dni pri sobni temperaturi. Če ni mešalca, postavi epruvete v inkubator horizontalno. Če mešalec je, a ni inkubatorja, prilepi epruvete na mešalni ploščo in jih pusti mešati 24 ur pri 32 °C ali do 48 ur pri sobni temperaturi.



Stanje kulture	**Zahtevani dnevi**
32 °C – z mešanjem	1 dan
32 °C – brez mešanja	1-2 dni
Sobna temperatura – z mešanjem	1-2 dni
Sobna temperatura – brez mešanja	se ne priporoča

Vprašanja za ponavljanje

1. Kaj je bakterijska kolonija?
2. Zakaj si izbral eno zeleno in eno belo kolonijo s petrijevke? Kaj lahko s tem dokažeš?
3. V kakšno pomoč so navedeni pripomočki pri kloniranju?
   a) UV-luč
   b) inkubator
   c) mešalni inkubator
4. Posamezne kolonije transformiranih bakterij preneseš v hranilno gojišče, kjer se hitro množijo. Razloži, kako je ta postopek povezan s tvojim glavnim ciljem – zdravljenjem raka.

4. vaja: Skrivnosti tropskega deževnega gozda

Prva faza čiščenja – koncentriranje bakterijske kulture

Do zdaj ste vzgojili žive kulture dveh bakterijskih klonov. Ena vsebuje gen za proizvodnjo zelenofluorescentnega proteina (GFP – green fluorescent protein), druga pa ne. Zdaj je čas, da izoliramo GFP iz bakterijskih celic. Najprej je treba pridobiti veliko količino teh bakterijskih celic.

Centrifugiranje epruvete s tekočo celično kulturo je dober način koncentriranja velike količine celic. Kje pričakuješ, da se bodo celice skoncentrirale po centrifugiranju: v kepi na dnu epruvete ali na površju (supernatant)?

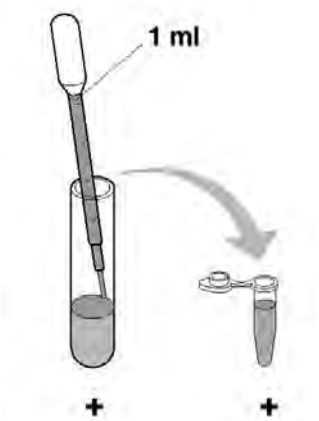
Material in oprema delovnih mest

Dijakov delovni pult	**Število**
Epice	1
Pipete	1
Stojalo za epice	1
Flomaster	1
Kozarec vode za splakovanje pipet	1

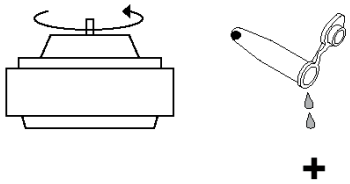
Profesorjevo delovno mesto	**Število**
TE-pufer	1 steklenička
Lizocim (rehidriran)	1 steklenička
Centrifuga	1
UV-luč	1

Laboratorijski postopek

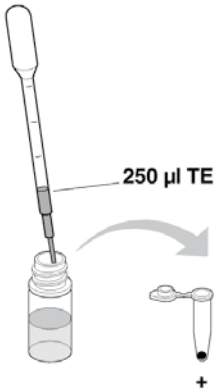
1. S flomastrom napiši svoje ime na eno od novih epic.
2. Vzemi iz inkubatorja obe svoji epruveti z bakterijskimi kulturami v tekočem gojišču. Preglej ju najprej pri normalni sobni svetlobi, potem pa še pod UV-lučjo. Zapiši vsako spremembo barve. S čisto pipeto prenesi celotno vsebino (2 ml) iz epruvete + v epico, ki jo označiš s +. Zamaši epico. Vsebino iz epruvete lahko zdaj zavržeš.



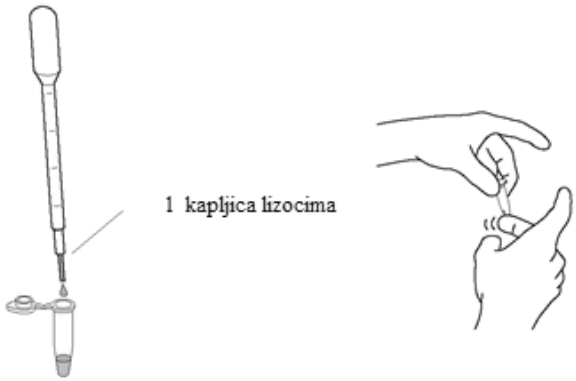
3. Centrifugiraj + epico 5 minut pri maksimalni hitrosti. Prepričaj se, da si pravilno uravnotežil epice v centrifugi. Če tega ne znaš, ne centrifugiraj epic, ampak najprej prosi profesorja za navodila.
4. Po centrifugaciji odpri epico in počasi odlij tekočino nad kepico (supernatant), na dnu ostane kepica (pelet). To je skoncentrirana bakterijska kultura.



5. Preglej kepico pod UV-lučjo. Zapiši svoja opažanja.
6. Z novo pipeto dodaj 250 mikrolitrov TE-pufra (elucijski pufer) v epico. Resuspendiraj bakterijsko kepico s hitrim pipetiranjem gor in dol po pipeti.



7. Z izprano pipeto dodaj eno kapljo lizocima v bakterijsko suspenzijo; lizocim je encim, ki razgradi bakterijsko celično steno. Zamaši epico, zmešaj vsebino s »frcanjem« le-te in jo preglej pod UV-lučjo. Nato postavi epico v zamrzovalnik do naslednje laboratorijske vaje. Zamrzovanje bo povzročilo še dodatno razgradnjo bakterijske celične stene.



Vprašanja za ponavljanje

1. Uporabili ste bakterijo za namnožitev gena, ki omogoča nastanek posebnega zelenega proteina, izoliranega iz rastline. Ta protein je potencialno zdravilo proti želodčnemu raku.

Razloži pomen posameznih stopenj, ki si jih uporabil pri četrti vaji:

a) centrifuga –
b) lizocim –
c) zamrzovalnik –

2. Zakaj si v prvi fazi čiščenja zavrgel tekočino (supernatant) nad bakterijsko kepico?
3. Zakaj si zavrgel belo tekočino iz – epruvete in obdržal zeleno iz + epruvete?
4. Ali lahko utemeljiš, zakaj zunanja celična stena poči ob zamrznitvi? Kaj se zgodi z zaprto steklenico, napolnjeno s sadnim sokom, če jo zamrznemo?
5. Kaj je bil namen bakterijske razgradnje ali lize?

5. vaja: Skrivnosti tropskega deževnega gozda

Druga faza čiščenja – Liziranje bakterij (razgradnja bakterij)

Predstavljajte si, da je novica o vašem razvijanju zdravila proti želodčnemu raku dosegla javnost. V zadnjih mesecih so poskušali priti v stik z vami, bolniki z rakastim obolenjem, in z njihovimi družinami, da bi izvedeli več o GFP (green fluorescent protein).

Medtem so Biotexovi znanstveniki razvili metodo za ločevanje GFP od preostalih bakterijskih proteinov z uporabo kromatografije, ki je dobra tehnika za ločevanje proteinov v proteinski mešanici. Bakterije vsebujejo tisoče bakterijskih proteinov, izmed katerih je treba izolirati GFP.

Površina GFP je zelo hidrofobna (odbija vodo; se »boji« vode). V pufru, ki vsebuje višje koncentracije soli, se ta del proteina veže na druge hidrofobne površine. Proteinsko mešanico, ki vsebuje GFP, nanesemo v kolono, ki je napolnjena s hidrofobnimi delci – nosilcem (stacionarna faza). Če je HIC-nosilec v pufru z visoko koncentracijo soli, se nanj vežejo hidrofobni proteini (kot npr. GFP). Preostali nehidrofobni proteini pa potujejo neovirano skozi kolono. Ko sol odstranimo, se oblika GFP-proteina tako spremeni, da se prekine stik med proteinom in nosilcem. To povzroči, da se GFP odlepi od delcev (od nosilca) in zapusti kolono. Na tak način lahko GFP-protein izoliramo (ločimo) od preostalih bakterijskih proteinov.

Material in oprema delovnih mest

Dijakovo delovno mesto	**Število**
Epice	1
Pipete	1
Stojalo za epice	1
Flomaster	1
Kozarec vode za čiščenje pipet	1
Kolona za HIC-kromatografijo	1
Zamašek za kolono	1
Epruveta ali steklenička za odpadke	1

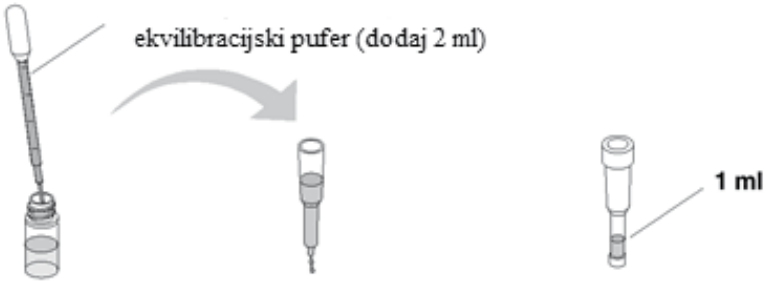
Profesorjevo delovno mesto	**Število**
Pufer za vezavo (Binding buffer)	1 steklenička
Ekvilibracijski pufer	1 steklenička

Centrifuga	1
UV-luč	1-4

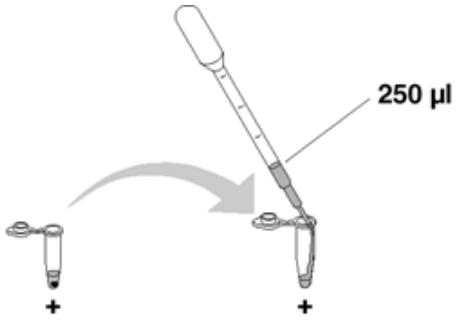
Laboratorijski postopek

1. Vzemi epico iz zamrzovalnika in odtajaj njeno vsebino s toploto rok. Nato jo centrifugiraj 10 minut pri maksimalni hitrosti. Tako ločiš netopne bakterijske ostanke, ki se usedejo na dno epice. Epico označi z začetnicami tvoje skupine.
2. Med centrifugiranjem pripravi kromatografsko kolono. Pred kromatografijo intenzivno pretresi kolono, da se hidrofobni delci enakomerno razporedijo po koloni. Nato še zadnjič stresi kolono, kot da bi stresal termometer, da se delci usedejo na dno kolone. To lahko dosežeš tudi z nežnim trkanjem kolone po mizi. Odstrani zamašek in odlomi čep na spodnjem delu kolone. Počakaj, da steče iz nje vsa tekočina.

3. S pipeto dodaj na vrh kolone 2 x po 1 ml (2 ml) ekvilibracijskega pufra, nato odtoči toliko pufra, da na dnu kolone ostane 1 ml. Zamaši kolono na obeh koncih in jo shrani pri sobni temperaturi do naslednje laboratorijske vaje.



4. Po centrifugiranju preglej epico pod UV-lučjo. Bakterijski ostanki bi morali biti vidni kot kepica na dnu, tekočina nad to bakterijsko kepico se imenuje supernatant. Z novo pipeto prenesi 250 mikrolitrov supernatanta v novo epico označeno s **+.** Ponovno dobro speri pipeto, da jo boš lahko uporabil v nadaljevanju te laboratorijske vaje.



5. Z dobro sprano pipeto prenesi 250 mikrolitrov pufra za vezavo v epico s supernatantom. Postavi jo v hladilnik do naslednje laboratorijske vaje.

Vprašanja za ponavljanje

1. a) Kakšne barve je bila kepica pri tem eksperimentu?
   b) Kakšne barve je bil supernatant?
   c) Razloži.
2. Zakaj si v tej fazi čiščenja zavrgel kepico (pelet)?
3. Na kratko opiši HIC-tekočinsko kromatografijo in njeno uporabo v tem laboratorijskem postopku.

6. vaja: Skrivnosti tropskega deževnega gozda

Tretja faza čiščenja – HIC-tekočinska kromatografija

V tej sklepni fazi čiščenja GFP boš nanesel na HIC-kolono (hidrofobna interakcijska kromatografija) bakterijske ostanke, ki si jih predhodno pripravil. HIC-kolona vsebuje hidrofobne delce. Na te se bo vezal GFP, preostali bakterijski proteini pa bodo neovirano stekli iz kolone. Ko bomo iz nje odstranili tudi sol, bo iztekel tudi GFP.

Pri tej kromatografiji boš uporabil naslednje pufre:

Ekvilibracijski pufer	– slana raztopina (2 M $(NH_4)_2SO_4$)
Pufer za vezavo	– zelo slana raztopina (4 M $(NH_4)_2SO_4$)
Pufer za spiranje	– srednje slana solucija (1.3 M $(NH_4)_2SO_4$)
TE-pufer	– zelo malo slana solucija (10mM $(NH_4)_2SO_4$)

Material in oprema delovnih mest

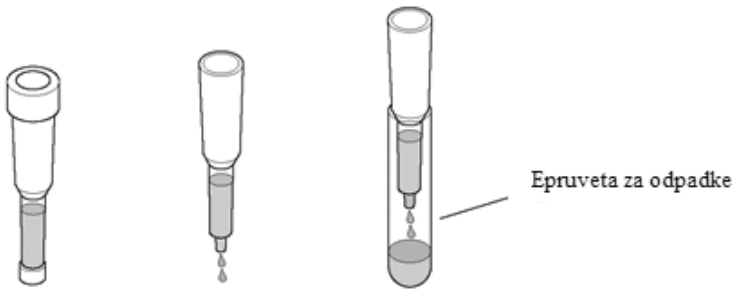
Dijakovo delovno mesto	Število
Zbiralne epruvete	3
Pipete	1
Stojalo za epice	1
Flomaster	1
Kozarec vode za spiranje pipe	1

Kolona za HIC-kromatografijo	1
Zamašek za kolono	1
Epruveta ali steklenička za zbiranje odpadkov	1

Profesorjevo delovno mesto	**Število**
Pufer za spiranje	1 steklenička
Ekvilibracijski pufer	1 steklenička
TE-pufer (elucijski)	1 steklenička
UV-luč	1-4

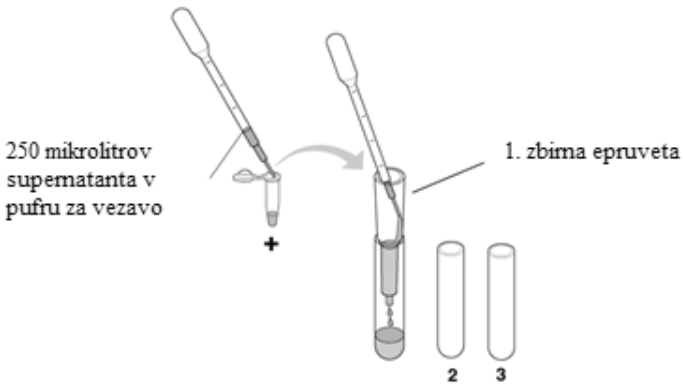
Laboratorijski postopek

1. Označi tri zbiralne epruvete s številkami od 1 do 3 in jih postavi v stojalo. S kolone odstrani zamaška, jo postavi v epruveto za odpadke in pusti, da odteče tekočina. Nato kolono postavi v epruveto tako, da bo vmes prostor (vmes daj papir), ki bo omogočil, da bo tekočina stekla iz nje, in jo postavi v prvo zbiralno epruveto.

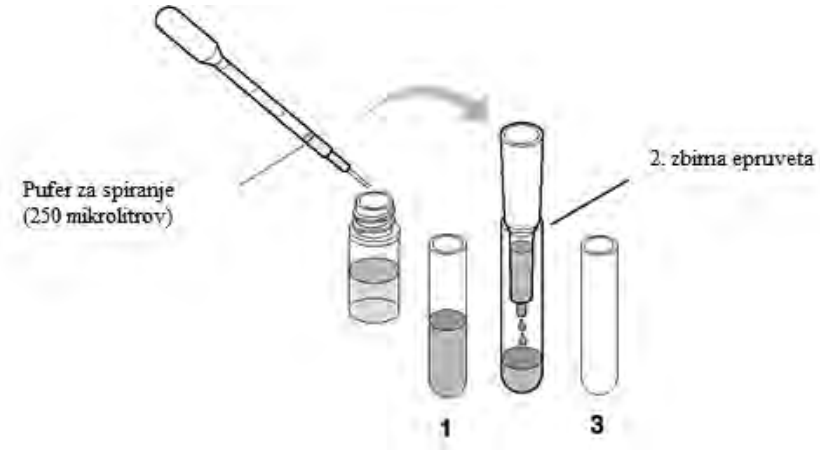


2. Napovej, kaj misliš, da se bo zgodilo v nadaljevanju te laboratorijske vaje, in to zapiši v preglednico na str. 171 pod vprašanja za ponavljanje.

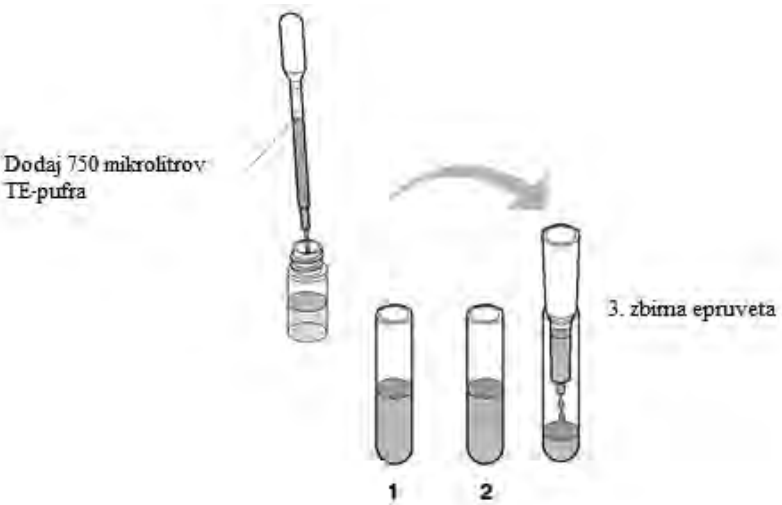
3. Z novo pipeto previdno prenesi 250 µl + supernatanta na vrh kolone. Prisloni pipeto na rob kolone malo nad nosilcem in počasi ob steni iztisni supernatant. Opazuj kolono z UV-lučjo. Zapiši vse, kar opaziš. Ko pufer neha teči, prestavi kolono v drugo zbirno epruveto.



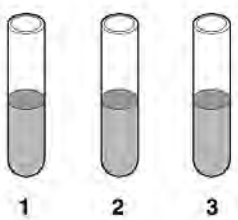
4. Prenesi filter v drugo zbiralno epruveto. S sprano pipeto dodaj 250 µl pufra za spiranje in počakaj, da celotna količina steče v kolono. Opazuj jo z UV-lučjo. Zapiši vse, kar opaziš. Ko pufer neha teči, prestavi kolono v tretjo zbirno epruveto.



5. S sprano pipeto dodaj 0.75 ml TE-pufra in počakaj, da celotna količina steče v kolono. Ponovno napovej, kaj se bo zgodilo, potem preglej kolono pod UV-lučjo in podaj rezultate v preglednici na str. 171 pod vprašanji za ponavljanje.



6. Preglej vse tri zbiralne epruvete in zapiši vsako barvno razliko med epruvetami. Epruvete zapri s parafilmom in jih postavi v hladilnik do naslednje laboratorijske vaje.



Vprašanja za ponavljanje

1. Navedi svoje napovedi in opažanja za vzorec in kaj se zgodi z njim, ko dodaš v HIC-kolono naslednje pufre:

Zbirna epruveta	Napoved	Opažanja pod UV-lučjo
Epruveta 1 Vzorec v pufru za vezavo		
Epruveta 2 Vzorec s pufrom za spiranje		
Epruveta 3 Vzorec s TE-pufrom		

2. S pomočjo tabele primerjaj, kako so se tvoje napovedi ujemale z opažanji glede posameznega pufra:
   a) pufer za vezavo –
   b) pufer za izpiranje –
   c) TE-pufer –
3. Glede na rezultate razloži naloge teh pufrov. Namig: kako se njegovo ime nanaša na njegovo funkcijo?
   a) ekvilibracijski pufer –
   b) pufer za vezavo –
   c) pufer za izpiranje –
   d) TE-pufer –
4. Kateri pufri imajo najvišjo in kateri najnižjo koncentracijo soli? Kako to veš?
5. Ali ti je uspelo izolirati in očistiti GFP od preostalih bakterijskih proteinov? Navedi dokaze, ki podpirajo tvoje trditve.

7. vaja: Skrivnosti tropskega deževnega gozda

Testiranje in placebo

Preden lahko testiramo protein (zdravilo) na ljudeh, ga moramo najprej testirati na miših ali podganah z želodčnim rakom. Ugotoviti moramo, ali so te živali ozdravljene, in če so, koliko proteina je za to potrebno. Treba je tudi ugotoviti, ali protein povzroča kakršne koli stranske učinke ali težave.

Da bi ugotovili, ali protein resnično deluje, je treba uporabiti kontrolno substanco, placebo. To je snov, na primer voda, ki nima nobenih zdravilnih učinkov. Ameriška zbornica za živila in zdravila (FDA – Food and Drug Administration) bo pregledala Biotexove eksperimente, da bi ugotovila, ali je GFP neškodljiv in ali resnično ozdravi želodčnega raka. FDA tudi zahteva, da vsako zdravilo najprej preskusimo na dveh vrstah živali in šele potem tudi na ljudeh. Če se ne držimo teh pravil, lahko izgubimo milijone dolarjev v zapravljenih študijah in nikoli nam ne uspe pomagati Ramonu in drugim žrtvam želodčnega raka.

Ena od Biotexovih znanstvenic je vbrizgala 1, 2 ali 3 kaplje očiščenega proteina podganam z želodčnim rakom. Podobno je testirala placebo na drugi skupini živali. Po določenem času je preštela število tumorjev, ki so v njih še ostali. Preglej njena opažanja, ki jih najdeš v preglednici in odgovori na vprašanja.

Testirani vzorec	število kapljic	število najdenih tumorjev
Zeleni protein	1	11
Zeleni protein	2	7
Zeleni protein	3	1
Placebo	1	14
Placebo	2	17
Placebo	3	13

1. Ali bi glede rezultatov lahko rekli, da je protein učinkovit proti želodčnem raku? Obrazloži odgovor.
2. Kolikšno količino proteina bi priporočal za testiranje na večjih živalih, kot so npr. opice, ali na ljudeh?
3. Aktivisti združenja proti mučenju živali PETA (People for Ethical Tretment of Animals) so slišali za vaše teste in zahtevajo, da najdete alternative za teste na živalih. Ker imajo nekateri glede tega zelo odklonilno stališče, obstaja nevarnost, da bi bojkotirali vse prihodnje Biotexove izdelke. To bi pomenilo zelo slabo reklamo in bi odgnalo potencialne investitorje. Mathew, aktivist združenja PETA, je trenutno pri Tiši. Kaj bi storili oz. naredili, da bi ga pomirili glede te neprijetne situacije?

8. vaja: Skrivnosti tropskega deževnega gozda

Marketing – Stališča različnih skupin ljudi

Upoštevaj stališča naslednjih skupin ljudi in kako ta vplivajo na postavljanje proteina (zdravila) na tržišče.

1. faza: Identifikacija (predstavitev) sodelujočih

Navedi cilje tvoje raziskave in odzive nanjo za vsako od navedenih skupin. S svojimi besedami povej, kdo so in kaj hočejo. Tu bo treba malo poizvedovati (raziskave). Poskusi po medmrežju in v knjižnici.

a) **FDA (Food and Drug Administration)** pri nas JAZMP (Javna agencija za zdravila in medicinske pripomočke) in različna ministrstva

b) **Ramon** in druge žrtve želodčnega raka – BOLNIKI

c) **Mathew** in drugi aktivisti **PETA –** Društvo proti mučenju živali

d) **Tiša** in drugi **Biotexovi** uslužbenci – farmacevtska tovarna

9. vaja: Skrivnosti tropskega deževnega gozda

Trženje – etika in denar (ekonomija)

Trenutno je v tovarni Biotex zaposlenih 50 ljudi. Tovarna ima v banki 40 milijonov dolarjev. Ker zdravilo – protein GFP še ni šlo skozi vse faze testiranja (predklinične študije), ki jih zahteva FDA, podjetje še nima nobenega vira dohodkov. V prvih dveh letih testiranja so porabili preko 16 milijonov dolarjev.

Preglej preglednico 2 in se na podlagi tega odloči, koliko bo moral Biotex zaračunati bolnikom za zdravilo.

Preglednica 2: Pričakovani izdatki od leta 1 do 6

Leto	Zaposleni	Izdatki (milijoni $)	Testiranje in trženje
1	50	8	Testiranje na glodavcih
2	50	8	Testiranje na opicah
3	70	11	FDA – pregled testov na živalih in začetek I. faze: testiranje na zdravih ljudeh
4	85	13	Testiranje na ljudeh: II. faza – ugotovi, ali protein deluje, najučinkovitejši odmerek, stranske učinke, ki so še dopustni. Če je ta faza uspešna, bodo investitorji vložili še 70 milijonov $.
5	100	45	Testiranje na ljudeh: III. faza – veliko vključenih bolnikov in če je zdravljenje uspešno, pošlji FDA obrazec za registracijo izdelkov.
6	100	18	Dovoljenje FDA? Če dobi dovoljenje FDA, bo Biotex vsako leto porabil 18 milijonov za proizvodnjo in trženje tega proteina (zdravila).

Predpostavi, da stane proizvodnja zdravila (na bolnika?, torej zdravila za celotno terapijo?) 400 dolarjev. Prodajna cena bo ključna pri odločanju, koliko ljudi si bo lahko privoščilo zdravljenje. Po dovoljenju FDA bo tržišče videti takole:

Tip rakastega obolenja	Število bolnikov, ki si zdravljenje lahko privošči	Stroški zdravljenja ($)
Želodčni rak		
Medicare ne bo pokril cene zdravljenja, če bo ta nad 1000 $ (*Medicare = zdravstvena zavarovalnica)	10.000 30.000 60.000	2.000 $ 1.000 $ 600 $
Pljučni rak		
Medicare bo pokril stroške, če bodo ti znašali 500 $ ali manj. Zdaj cela terapija stane 500 $.	6.000 15.000 300.000	2.000 $ 1.000 $ 500 $

Vprašanja za ponavljanje

Glede na opisan finančni in tržni položaj odgovori na tri vprašanja.

1. Kateri tip raka, želodčni ali pljučni, bo dobil največ finančne podpore od Medicarea?
2. Kateri tip raka, želodčni ali pljučni, bo omogočil Biotexu največji dobiček? Razloži.
3. Če bo Biotex uporabil zeleni protein za oba tipa rakastih obolenj, po kakšnih cenah naj prodaja zdravili: po enaki ali različni? Razloži.

10. vaja: Skrivnosti tropskega deževnega gozda

Dijakova predstavitev izbrane dileme

Tukaj je navedenih nekaj resničnih življenjskih dilem, ki se lahko pojavijo med postavljanjem novega zdravila na tržišče. Ti in tvoja skupina boste izbrali eno, jo preučili in našli najbolj realistično rešitev, upoštevajoč naslednja stališča:

a) FDA (v Sloveniji JAZMP – javna agencija za zdravila in medicinske pripomočke)

b) skupina bolnikov – Ramon in drugi

c) skupina socialno ozaveščenih (civilna družba) – Sierra Club, PETA (društvo proti mučenju živali)

d) Biotexovi uslužbenci (farmacevtska tovarna)

1. dilema

V drugem letu testiranja se Mathew in drugi pripadniki združenja PETA ne strinjajo z uporabo opic za testiranje proteina. Biotex se obrne na FDA in zaprosi za odstranitev pravila, ampak FDA tega noče storiti, in celoten proces se ustavi. Biotex skliče konferenco, na kateri so predstavniki vseh štirih skupin, zato da bi rešili to dilemo. Predlagaj način, kako bi rešili dilemo in omogočili nadaljevanje testiranja zdravila.

2. dilema

Med drugo fazo testiranja na ljudeh zdravniki nočejo uporabljati placeba pri testiranju proteina. Prepričani so, da protein deluje, in zato nočejo, da zaradi testiranja polovica njihovih bolnikov umre. Prepričaj zdravnike, da nadaljujejo testiranje po pravilniku FDA, tako da bo Biotex lahko tržil svoje zdravilo.

3. dilema

Polovica šestega leta je mimo. Rezultati tretje faze so bili zelo dobri. Tiša in Ramon zelo težko pričakujeta dovoljenje FDA. Ta pa skliče javno sejo, na katero so povabljeni tudi Mathew in drugi pripadniki PETA. FDA je namreč skeptična glede dolgoročnih stranskih učinkov, ki jih protein lahko ima na zmožnost reprodukcije, saj se nobeden od testov posebej ne nanaša na to temo. To bi namreč zahtevalo dodatne teste z opicami. Najdi kompromis za to dilemo, da čim hitreje spraviš zdravilo na trg.

4. dilema

V sedmem letu začne Biotex prodajati zdravilo proti raku. S finančnimi podatki iz 7. vaje se odloči za cenovno politiko. Zapomni si, da boš, če ne zaslužiš več kot 18 milijonov dolarjev na leto (kar je enako letnim izdatkom), moral odpuščati zaposlene ali pa bankrotirati. Najdi način, da bo Biotex ostal konkurenčen in finančno stabilen, ne da bi izgubil zaposlene ali sposobnosti razvijanja in prodajanja izdelkov.

5. dilema

Predstavljaj si, da neka nova raziskava v osmem letu pokaže, da zeleni protein zdravi tudi pljučnega raka. Če bi Medicare plačal bolnišnicam zdravljenje bolnikov, lahko to predsta-

vlja ogromno tržišče. Storil pa bi to le, če bi Biotex zahteval za zdravljenje 500 dolarjev ali manj. Biotex pa za zdravljenje želodčnega raka že zahteva več kot to. Kaj lahko storiš, da obdržiš želodčne bolnike, hkrati pa dobiš denarno pomoč Medicara?

6. dilema

V devetem letu pridobi neki neznani znanstvenik patent za isti protein proti raku. Domnevno je preučeval ta protein, malo preden je Tiša dobila skrivnostne zelene liste na svojem pohodu po andskem pragozdu. Ker ima zdaj patent, ima pravico zahtevati plačilo od Biotexa. Tako zahteva 20 milijonov dolarjev. Kaj mu lahko ponudiš, da preprečiš bankrot?

7. dilema

Pripadniki Ramonove vasi in tudi drugi andski bolniki niso sposobni plačati več kot 40 dolarjev za zdravilo, katerega proizvodnja stane Biotex 400 dolarjev. (a) Ali si lahko privoščiš, da pomagaš tem bolnikom glede na to, da tvoj izdelek prihaja iz njihovih krajev? Če jim ne moreš pomagati, kaj lahko storijo, da pridejo do zdravljenja? (b) Predstavljaj si, da se odločiš in jim začneš dobavljati zdravila pod ceno. Šest mesecev pozneje se na črnem trgu pojavi tvoje zdravilo. Hkrati naj bi ogromno število Ramonovih sovaščanov zbolelo za želodčnim rakom in Biotex jim mora pomagati. Kaj lahko storiš zdaj?

8. dilema

Očitno Biotexov protein prepreči ali nadzira tudi neko zelo redko kožno bolezen (avtoimunsko bolezen), za katero boleha na svetu 250–300 bolnikov letno. Naj Biotex znanstveno ugotovi, ali protein resnično pomaga tudi tem ljudem? Če se Biotex odloči za to študijo, mora slediti vsem FDA-pravilom, da ugotovi učinkovitost proteina. To bi stalo Biotex več kot 12 milijonov dolarjev. Obrazloži svoj odgovor.

Vprašanja za ponavljanje

Da bi postavil osnovo za svojo predstavitev, analiziraj eno izmed osmih dilem in opiši težave, ki jih predstavlja. Potem postavi dve možni vprašanji in odgovora. V vsakem primeru navedi stališče osebe, ki postavlja vprašanje.

a) FDA

b) bolniki kot Ramon

c) Mathew in drugi pripadniki PETA

d) Biotex

Dilema: _____

Tvoj odgovor: _____

V čem je problem?

1. vprašanje (Stališče A, B, C in D?) — Možni odgovor
2. vprašanje (Stališče A, B, C in D?) — Možni odgovor

Merila za oceno dijakove predstavitve izbrane dileme

V skupini so**:** _____

_____

_____

_____

Izbrana dilema: _____

Merila	**Možno število točk**	**Tvoje točke**
Kratek opis scenarija	**8**	
Stališča		
FDA	**8**	
Bolnikov	**8**	
Civilne družbe (Sierra Group, PETA, in drugih)	**8**	
Biotexovih uslužbencev	**8**	
Rešitev in njena logičnost	**30**	
Grafičnost	**10**	
Predstavitev posameznega stališča		
Rešitev in njena logičnost		
Ali _____		
Ustna predstavitev	**20**	
Skupaj	**100**	

Dodatek D

Podatki o želodčnem raku

Epidemiologija in tvegani dejavniki

Vsako leto je v ZDA 25.000 primerov želodčnega raka. Dvakrat bolj so mu izpostavljeni moški, še dvakrat bolj pa moški afro-ameriškega rodu. Najbolj tvegana so leta med 50 in 59. Čeprav je vse manj pogost v ZDA, je želodčni rak še vedno eno najbolj razširjenih rakastih obolenj po svetu.

Strokovnjaki domnevajo, da so razlogi povezani s hrano. Natrijev nitrat in nitrit (zelo pogosta konzervansa) se v želodcu pretvorita v nitrozamine, ki so zelo močni povzročitelj rakastih obolenj. Domneva se, da C-vitamin ščiti pred kemičnimi reakcijami, ki ustvarjajo nitrozamine.

Nižji socialni sloji, kajenje in alkoholizem so povezani s povečanjem tveganja. Želodčni rak je včasih napačno diagnosticiran kot čir.

Preprečevanje in zgodnje odkrivanje

Dieta, ki zmanjšuje možnost rakastih obolenj skupaj s prenehanjem kajenja in pitja alkohola, je najboljša preventiva proti želodčnemu raku.

Simptomi in diagnoza

Simptomi so nejasni in se po navadi začnejo z bolečinami v želodčnem predelu, ki jim sledi majhna izguba teže. Poznejši simptomi se kažejo v obliki hitre izgube teže, kot zgodnji občutek, da si sit, kot težave z bruhanjem, kri v blatu, anemija, otipljiva masa in otečeno abdominalno (trebušno) področje. Če se čir na želodcu ne pozdravi v 4 do 6 tednih zdravljenja, je to lahko rak.

Zdravljenje in prognoza

Želodčni rak je težko ozdravljiv. V polovici primerov kirurgi odprejo trebuh in ugotovijo, da se je bolezen preveč razširila (metastaze), tako da operacija ni več mogoča. Če se zanjo lahko odločijo, odstranijo del želodca ali kar celega. Možnost petletnega preživetja je 10-odstotna.

Vir

1 *Leib, S., Renneker, M. (1989). Understanding Cancer. 3rd ed. Boulder: Bull Publishing Company, p. 176-177. ISBN 0-915950-86-3.*

Dodatek G

Genska regulacija: En gen – en protein

Naše telo ima na tisoče proteinov, od katerih ima vsak svojo funkcijo. To so npr. prebavni encimi, nekateri hormoni in protitelesa ... Informacija za tvorbo proteinov se nahaja v DNA. Njen del, ki vsebuje kodo za posamezni protein, se imenuje gen. V človeškem genomu je okoli 30.000 genov. Vsak gen kodira en protein: en gen – en protein. Gen za tvorbo prebavnega proteina v ustih je drugačen od tistega, ki proizvaja protitelo ali pigment.

Organizmi uravnavajo izražanje genov in količino proteinov v celicah glede na razvoj, celično specializacijo in prilagoditev na okolico. Genska regulacija omogoča prilagoditev na različne okoliščine, hkrati pa preprečuje nepotrebno tvorbo proteinov, ki bi lahko škodovali organizmu. Geni, ki sodelujejo pri transportu in prebavi hrane, so dobri primeri zelo reguliranih genov; na primer sladkor arabinoza je hkrati vir energije in vir ogljikov. Bakterije *E. coli* proizvajajo tri encime, ki so potrebni za razgradnjo arabinoze kot vira hrane. Geni, ki kodirajo te encime, se ne izrazijo, ko arabinoze ni na gojišču. Izrazijo se le, če je na gojišče dodana arabinoza kot vir energije. Kako je to mogoče?

Reguliranje genskega izražanja proteinov se dostikrat dogaja na ravni transkripcije DNA v mRNA. Ta regulacija se zgodi na zelo posebnem mestu na DNA, ki se imenuje PROMOTOR. Tu se encim polimeraza RNA usede na DNA in začne transkripcijo (prepis) gena. V bakterijah so skupine genov dostikrat zbrane pod okriljem enega promotorja. Skupino genov, ki so nadzorovani z enim promotorjem, imenujemo OPERON.

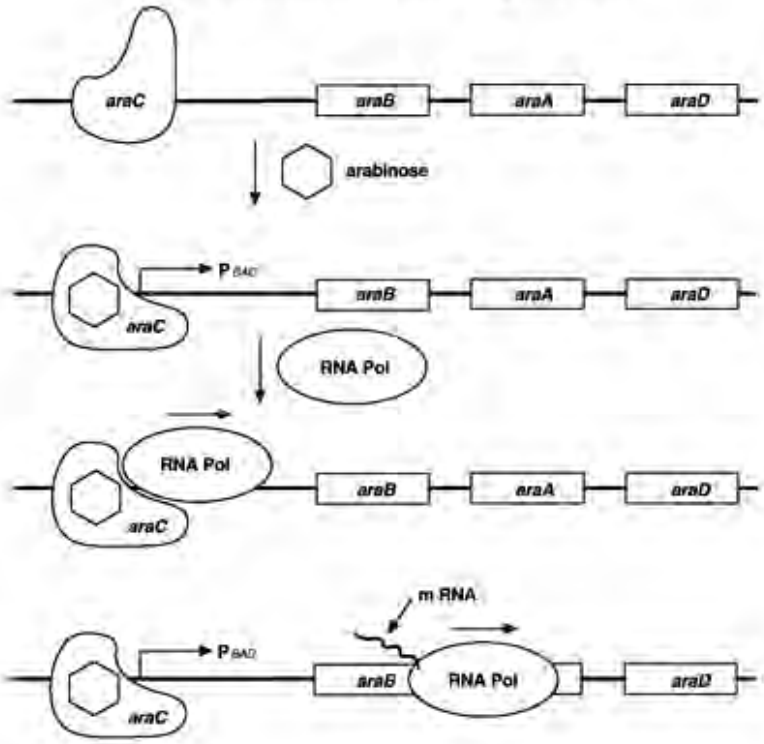
Trije geni (*ara*B, *ara*A in *ara*D), ki kodirajo encime, odgovorne za razgradnjo arabinoze, so zbrani na *arabinoznem operonu*. Ta omogoča prepis (transkripcijo) vseh treh genov. Za transkripcijo teh treh genov je potreben sočasen obstoj promotorja DNA, polimeraze RNA, proteina (*ara*C), ki se veže na DNA, in sladkorja arabinoze. Če je arabinoza na gojišču, ga bakterija privzame. Arabinoza v bakteriji neposredno sodeluje z *ara*C, ki se veže na DNA. Interakcija povzroči spremembo oblike proteina *ara*C, kar omogoči vezavo polimeraze RNA. Tako se trije geni B, A in D lahko prepišejo in opravijo svojo nalogo. Ko arabinoze zmanjka, se *ara*C vrne v prvotno obliko in prepisovanje se ustavi.

Plazmid pGLO je sestavljen tako, da vsebuje arabinozni operon. Ob njem sta tako promotor kot gen *ara*C. Manjkajo pa trije geni (*ara*B, *ara*A in *ara*D), ker so jih izrezali in nadomestili z genom, ki nosi zapis za protein GFP. Ko je torej na gojišču arabinoza, se začne transkripcija RNA in produkcija proteina GFP. Ko celice proizvajajo zelenofluorescentni protein GFP, se svetijo zeleno. Če arabinoze ni, *ara*C prepreči transkripcijo in GFP ne nastaja. Ko se GFP ne tvori, imajo bakterijske kolonije divji tip (naravni) – fenotip. V petrijevki bodo le bele kolonije, ki ne svetijo.

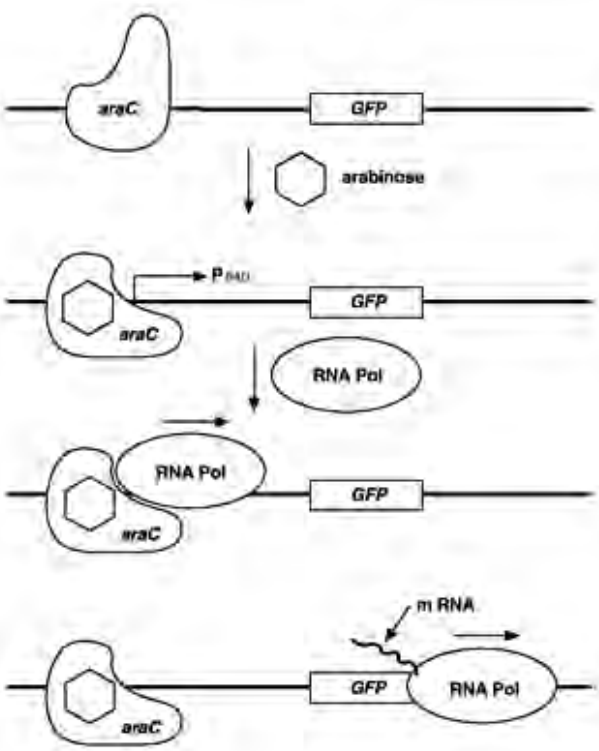
Glavna dogma sinteze proteinov je:

DNA > RNA > PROTEIN > LASTNOST

Arabinozni operon



Izražanje GFP



Biotehnologija: Delovni list – vaje

Skrivnosti tropskega deževnega gozda

Ime in priimek: *Št. točk:*

Razred: *Odstotki:*

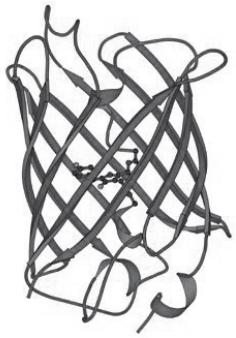
KRITERIJ
50 % - 63 % = 2
64 % - 77 % = 3
78 % - 89 % = 4
90 % - 100 % = 5

UTRJEVANJE IN PREVERJANJE

I. Skrivnosti deževnega pragozda

Molekularni genetiki so v devetdesetih letih 20. stoletja v *E. coli* s plazmidom vnesli gen za GFP (green fluorescent potein), ki so ga izolirali iz globokomorske meduze *Aequorea victoria*. GFP je beljakovina, zgrajena iz 238 aminokislin in kromofora, ki pod UV-lučjo sveti fluorescentno zeleno. (Slika 1)

Gen za GFP se v *E. coli K 12* izrazi le, če jo gojimo v LB-mediju, ki vsebuje ampicilin in arabinozo.



Slika 1: GFP-protein

1.	Razloži, zakaj je protein GFP, proizveden v *E. coli K 12*, heterologna oz. rekombinantna beljakovina?	1T
2.	Na sliki 1 označi (obkroži) kromofor.	1T
3.	Koliko nukleotidov določa protein GFP, ki ga proizvaja *E. coli K 12*?	1T
4.	Kakšno vlogo ima na LB-gojišču arabinoza?	1T
5.	Ali bi se gen za GFP v bakteriji izrazil na LB-gojišču z ampicilinom? Utemelji.	1T
6.	Razloži, s katerim delom vaje smo simulirali pomnoževalni (»scale-up«) proces?	1T
7.	Katero metodo čiščenja GFP si uporabil v prvi fazi čiščenja in kaj si s tem pridobil?	1T
8.	Po prvi fazi čiščenja si bakterijam dodal lizocim. Zakaj?	1T
9.	Poimenuj kromatografijo, ki smo jo uporabili v drugi fazi čiščenja?	1T
10.	Utemelji, katero lastnost proteina GFP smo izrabili pri izbrani kromatografiji?	1T
11.	Napiši dva primera uporabe proteina GFP v praksi!	1T

Anketa

RAZRED _____ **(š. l. 2009/2010)**

1. Ali so ti bile vaje s področja molekularne biologije všeč ? (Označi od 1 do 5; 5 – najbolj všeč):

   1 2 3 4 5

2. Priprava in izvedba vaj. Kako bi ocenil?

   a) Pisna gradiva (navodila) za vaje

   1 2 3 4 5

   b) Strokovno izvedbo

   1 2 3 4 5

   c) Nove metode in opremo

   1 2 3 4 5

   d) Drugačne oblike dela (delo v skupinah, okrogle mize)

   1 2 3 4 5

   e) Časovni potek vaj

   1 2 3 4 5

   f) Obliko pisanja poročil

   1 2 3 4 5

3. Katera vaja ti je bilo najbolj všeč? (Označi po vrstnem redu s številkami od 1 do 5; 1 – najbolj všeč ...)

   ___ Izolacija DNA

   ___ Restrikcijska analiza DNA (restrikcijski encimi)

   ___ DNA fingerprinting

   ___ Gelska kromatografija

   ___ Skrivnosti tropskega deževnega gozda

   Na kratko utemelji svojo razporeditev _____

4. »Po opravljenih vajah mi je področje molekularne biologije jasnejše« (Oceni to trditev)

   1 (se ne strinjam) 2 3 4 5 (se zelo strinjam)

5. Kaj bi pri vajah pohvalil?

6. Kaj bi grajal?

7. Ali bi tako obliko vaj priporočil bodočim maturantom?

   1 2 3 4 5

8. Tvoji predlogi za izboljšanje vaj

Hvala za sodelovanje!

Opozorilo učiteljicam in učiteljem!

Vaja vsebuje delo z gensko spremenjenimi organizmi I. kategorije (GSO 1 - nenevarni organizmi).

Delo z GSO 1 lahko poteka le v registriranih prostorih, kjer je to dovoljeno, pod nadzorom usposobljenega osebja. Laboratorije za delo z GSO akreditira Ministrstvo za infrastrukturo in prostor.

2.3 Delovanje organizmov

2.3.1 Pomen mineralne prehrane za rast in razvoj rastlin

Dr. Katarina Vogel Mikuš, Oddelek za biologijo,
Biotehniška fakulteta Ljubljana

Povzetek

Rastline za svojo rast in razvoj poleg svetlobe, vode in ogljikovega dioksida potrebujejo tudi nekatera mineralna hranila, zato je treba posevke redno gnojiti. Mineralna hranila so bodisi del strukturnih molekul (proteini, celična stena), sodelujejo pri pridobivanju energije pri fotosintezi in celičnem dihanju, so kofaktorji encimov, sodelujejo pri redoks reakcijah oz. nastopajo v ionski obliki.

Namen vaje je ugotoviti, kako se kažejo simptomi pomanjkanja izbranih esencialnih elementov pri koruzi in sončnici in simptome pomanjkanja povezati z biološko vlogo izbranega elementa.

Čas izvedbe

Dvakrat po tri ure:

- tri ure – nastavijo poskus, vmes rastline rastejo na hranilnih raztopinah tri tedne,
- tri ure – opazovanje simptomov pomanjkanja elementov, določanje sveže mase rastlin, obdelava podatkov in diskusija

Povezava z biološkimi koncepti in cilji iz učnega načrta za biologijo

- B - Raziskovanje in poskusi
- C - Zgradba in delovanje celice (C1-9)
  - C-9 – Dijaki/nje razumejo izbirno prepustnost biotske membrane in osnovne načine prehajanja snovi skoznjo.
- F - Zgradba in delovanje rastlin, pridobivanje energije, izmenjava in transport snovi (F-18, 20)
  - F-18 – Dijaki/nje razumejo, zakaj rastline poleg svetlobne energije, vode in ogljikovega dioksida za vzdrževanje življenjskih procesov potrebujejo tudi mineralne snovi (npr. kot surovine za zgradnjo nekaterih organskih snovi, za aktiviranje encimov, za vzdrževanje notranjega okolja v celici).
  - F-20 – Dijaki/nje razumejo pomen in način transporta vode, mineralnih in organskih snovi po rastlini.
  - F-39 – Dijaki/nje razumejo, da so mineralne snovi in vitamini potrebni kot surovine za zgradnjo nekaterih organskih snovi, za aktiviranje encimov, za vzdrževanje notranjega okolja v celici.

- I - Biološke osnove zdravega življenja
  - I-2 – Dijaki/nje spoznajo esencialne snovi v prehrani človeka (nekatere aminokisline, maščobne kisline, minerali, vitamini in voda), razumejo njihovo vlogo pri delovanju človekovega telesa in poznajo nekatera živila, ki vsebujejo večje količine teh snovi. Rastline vsebujejo mineralne snovi, ki so pomembne tudi za prehrano živali in ljudi, prav tako pa lahko tudi kopičijo neželene snovi, kot npr. potencialno strupene kovine, ki so zdravju škodljive – povezava z biološkimi osnovami zdravega življenja.
- K - Človek in naravni viri
  - K-8 – Dijaki/nje kritično ovrednotijo vpliv sodobnega poljedelstva in živinoreje na okolje (npr. uporaba gnojil).

Medpredmetne povezave

Predznanje anorganske in organske kemije, poznavanje elementov in njihovih osnovnih lastnosti in spojin, poznavanje organskih molekul, ki so del rastlinskega organizma. Predznanje iz kemijskega računstva – poznavanje izračunavanja koncentracij, redčenje raztopin.

Uvod

Rastline pri fotosintezi s pomočjo svetlobe sintetizirajo energijsko bogate molekule iz ogljikovega dioksida in vode. Poleg ogljikovega dioksida in vode za rast in razvoj potrebujejo tudi nekatere elemente, kot so npr. dušik, fosfor in kalij, ki jih privzemajo v obliki anorganskih ionov, zato jim imenujemo mineralna hranila. Čeprav mineralna hranila v ekosistemih neprestano krožijo, vstopajo v biosfero večinoma preko koreninskega sistema rastlin. Mineralna hranila potem potujejo iz korenin v druge dele rastlin, kjer sodelujejo pri številnih bioloških procesih.

V antropogenih ekosistemih človek neprestano odnaša biomaso v obliki pridelkov, zato je treba odnesene snovi nadomeščati s pomočjo gnojil. Znano je, da se količina pridelka linearno povečuje s količino absorbiranih mineralnih hranil, predvsem dušika, kalija in fosforja. Da bi zagotovili potrebe rastlin po mineralnih hranilih, proizvodnja in uporaba mineralnih gnojil iz leta v leto naraščata. Skupaj z intenzivno pridelavo različnih poljščin in čezmerno uporabo nitratov in fosfatov močno narašča tudi obremenitev površinskih in talnih voda z omenjenimi mineralnimi hranili, saj rastline za svojo rast in razvoj navadno porabijo manj kot polovico umetno dodanih mineralnih hranil, presežna mineralna hranila pa se zaradi svoje dobre topnosti v talni raztopini iz tal izpirajo.

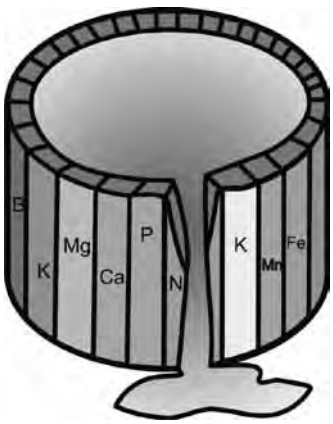
Rast poljščin pa lahko začne zaostajati tudi v z nitrati in fosfati dobro preskrbljenih tleh, in sicer zaradi pomanjkanja mikroelementov, to je mineralnih hranil, ki jih rastline potrebujejo v zelo majhni količini. Mednje sodijo predvsem cink, baker, železo, mangan in bor.

Namen tega sklopa je spoznati osnovne biološke lastnosti mineralnih hranil in simptome pomanjkanja povezati z biološko vlogo izbranega elementa.

Zgodovina raziskav mineralne prehrane

Že več kot 2000 let je znano, da dodajanje pepela ali apnenca v tla izboljšuje rast rastlin. Po drugi strani pa je bilo vprašanje, ali rastline za rast in razvoj potrebujejo minerala hranila ali ne, še pred 150 leti predmet intenzivnih znanstvenih debat. V sredini 19. stoletja je Justus von Liebig (1803–1873) razvil teorijo o mineralnih snoveh in ugotovil, da rastline za rast in razvoj potrebujejo dušik, žveplo, fosfor, kalij, kalcij, magnezij, silicij, natrij in železo.

Liebig je s svojimi opazovanji prišel do ugotovitve, da se je rast rastlin ustavila, če je v sistemu zmanjkalo le enega samega elementa, čeprav je bilo vseh drugih dovolj. To teorijo imenujemo »Liebigov zakon minimuma«. Liebig je s tem poudaril vlogo omejujočega dejavnika, torej elementa, ki je v tleh zastopan v relativno najmanjši količini (slika 1).



Slika 1. Omejujoč dejavnik je vedno tisti element, ki je zastopan v relativno najmanjši količini.

Dosežki omenjenih raziskav so konec 19. stoletja vodili v skokovit porast uporabe anorganskih gnojil, kot so kalijeve soli, fosfati in pozneje še nitrati, za izboljšanje rasti in povečanja pridelka kulturnih rastlin.

S poskusi gojenja rastlin v vodnih raztopinah, kamor so dodajali različne kombinacije elementov, in z razvojem analiznih tehnik so v 20. stoletju raziskovalci določili še pomen in esencialnost elementov, ki jih rastline potrebujejo v izredno majhnih količinah, to je mikrohranil.

Esencialni, koristni in neesencialni elementi

Esencialni elementi (preglednica 1) so nujno potrebni za rast in razvoj rastlin, saj so del strukturnih komponent oz. sodelujejo pri presnovi. Njihovo pomanjkanje se kaže kot motnje v rasti, razvoju in razmnoževanju. Brez esencialnih elementov rastlina tako ne more zaključiti življenjskega cikla, to je rasti in razvoja preko zigote, zarodka, vegetativne faze rasti, faze cvetenja in faze semenenja oz. tvorbe viabilnih (živih) semen.

Rastline večino mineralnih hranil pridobivajo iz tal, vodik, kisik in ogljik pa iz vode in ogljikovega dioksida, zato teh treh elementov navadno ne prištevamo med mineralna hranila.

Koristni elementi, kot sta npr. silicij in natrij (preglednica 1), pozitivno vplivajo na rast in razvoj le nekaterih rastlinskih vrst, medtem ko ***neesencialni elementi***, kot so npr. svinec, kadmij, arzen, živo srebro, stroncij, rubidij itd. nimajo biološke vloge.

Esencialne elemente lahko glede na relativne koncentracije v rastlinskih tkivih delimo na makro- in mikroelemente (preglednica 1).

Preglednica 1: Esencialni in koristni elementi

element	**Koncentracija v suhi snovi (v %) oz. ppm***
Elementi, pridobljeni iz vode in ogljikovega dioksida (%)	
Vodik (H)	6
Ogljik (C)	45
Kisik (O)	45
Elementi pridobljeni iz tal	
Makroelementi (%)	
Dušik (N)	1,5
Kalij (K)	1,0
Kalcij (Ca)	0,5
Magnezij (Mg)	0,2
Fosfor (P)	0,2
Žveplo (S)	0,1
Silicij (Si)	0,1
Mikroelementi (ppm)	
Klor (Cl)	100
Železo (Fe)	100
Bor (B)	20
Mangan (Mn)	50
Natrij (Na)	10
Cink (Zn)	20
Baker (Cu)	6
Nikelj (Ni)	0,1
Molibden (Mo)	0,1

*ppm je delec na milijon oz. $\mu g\ g^{-1}$

Glede na biokemijsko vlogo v rastlinskem organizmu esencialne elemente delimo na:

1. mineralna hranila, ki so del strukturnih molekul;
2. mineralna hranila, ki sodelujejo pri pridobivanju energije in ohranjanju strukturne integritete;
3. mineralna hranila v ionski obliki;
4. mineralna hranila, ki sodelujejo v redoks reakcijah.

Mineralna hranila, ki so del strukturnih molekul

V to skupino spadata dušik in žveplo, saj sta pomembna gradnika aminokislin, amidov, proteinov, nukleinskih kislin, koencimov itd. Rastline asimilirajo omenjeni mineralni hranili s pomočjo biokemičnih reakcij, ki vključujejo oksidacijo in redukcijo, pri katerih se tvorijo kovalentne vezi z ogljikom, in tako nastajajo organske spojine.

Mineralna hranila, ki sodelujejo pri pridobivanju energije in ohranjanju strukturne integritete

Sem spadajo fosfor, silicij in bor. Fosfor je sestavni del fosfatnih molekul, nukleinskih kislin, nukleotidov, fosfolipidov, fitata itd. in igra ključno vlogo v reakcijah, ki vključujejo univerzalno obliko energije, ATP. Silicij se, predvsem pri enokaličnicah, v amorfni obliki nalaga v celičnih stenah, kjer skrbi za izboljšanje togosti celičnih sten. Bor skupaj s kalcijem zagotavlja integriteto celične stene, sodeluje pri podaljševanju celic, metabolizmu nukleinskih kislin ter pri razvoju semen in plodov. V celičnih stenah tvori komplekse predvsem z manitolom, mananom ter polimanuronsko kislino. Fosfor, silicij in bor tako pomembno sodelujejo v reakcijah, ki vključujejo pridobivanje energije in ohranjajo strukturno integriteto. V celicah so večinoma kot fosfatni, silikatni in boratni estri, v katerih se povezujejo s hidroksilnimi skupinami organskih molekul (npr. sladkor–fosfat).

Mineralna hranila v ionski obliki

Mineralna hranila, ki so v rastlinskem organizmu bodisi kot prosti hidrirani ioni ali ioni, ki so elektrostatsko vezani na komponente celične stene, predvsem na pektin, so kalij, kalcij, magnezij, klor, mangan in natrij. Njihova vloga je predvsem, da so kofaktorji številnih encimov oz. sodelujejo pri regulaciji osmotskega potenciala rastlinskih celic. Kalij je kofaktor več kot 40 encimov, vzdržuje celično nevtralnost in je pomemben za vzdrževanje celičnega turgorja. Kalcij je gradnik osrednje lamele celične stene, kjer med sabo preko kalcijevih mostičkov povezuje molekule pektina, je kofaktor encimov, ki sodelujejo pri hidrolizi ATP-ja in fosfolipidov ter deluje kot sekundarni obveščevalec pri regulaciji metabolnih procesov. Magnezij je gradnik klorofila in sodeluje pri transportu fosfatov. Klor sodeluje pri fotosinteznih procesih, ki vključujejo cepitev vode in izločanje kisika. Mangan je gradnik kompleksa za cepitev vode v fotosistemu II, pomemben je za aktivnost dehidrogenaz, dekarboksilaz, kinaz, okasidaz in peroksidaz. Natrij sodeluje pri regeneraciji fosfoenolpiruvata pri C4 in CAM rastlinah in lahko v določenih primerih nadomešča kalij.

Mineralna hranila, ki sodelujejo v redoks reakcijah

Mineralna hranila, ki sodelujejo v redoks reakcijah, so železo, cink, baker, nikelj in molibden. Železo je sestavni del citokroma in drugih železovih proteinov, ki sodelujejo pri fotosintezi, fiksaciji zračnega dušika in celičnem dihanju. Cink je gradnik alkohol dehidrogenaze, karbonske anhidraze, peroksidaz, katalaz itd. Baker je gradnik plastocianina, citokrom oksidaze, oksidaze askorbinske kisline, tirozinaze, urikaze, fenolaze in lakaze. Nikelj je gradnik ureaze in pri simbiontskih bakterijah, ki fiksirajo zračni dušik gradnik hidrogenaze. Molibden pa je gradnik nitrogenaze, nitrat reduktaze in ksantin dehidrogenaze.

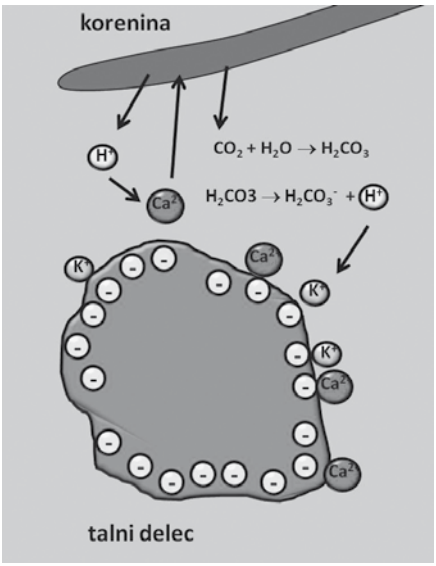
Poleg esencialnih elementov rastline vsebujejo tudi elemente, kot so aluminij (0.1 -500 ppm), selen in kobalt. Biološke funkcije aluminija in selena pri rastlinah ne poznamo, čeprav ju nekatere rastlinske vrste (npr. čajevec, aluminij; *Astragalus, Stanleya*, selen) kopičijo v velikih koncentracijah. Kobalt pa je gradnik kobalamina oz. vitamina B12 in njegovih derivatov. Ti so sestavni del mnogih encimov pri mikroorganizmih, ki fiksirajo zračni dušik. Pomanjkanje kobalta tako zavira razvoj in normalno delovanje koreninskih nodulov, v katerih poteka fiksacija zračnega dušika.

Privzem in transport mineralnih hranil

Rastline pridobivajo mineralna hranila iz tal. Tla so trifazni sistem, ki sestoji iz trdne, tekoče in plinaste faze. Trdno fazo sestavljajo organski (nerazgrajena in slabo razgrajena organska snov), humusni in mineralni del, ki ni več sestavni del matične kamnine. Količina tako organskega kot mineralnega dela se spreminjata skozi daljše časovno obdobje. Deleža tekoče faze – vode in plinaste faze – zraka pa sta odvisna od tipa tal in trenutnih vremenskih razmer. Tla začnejo nastajati s fizikalnim in kemijskim preperevanjem matične podlage. Pri preperevanju nastajajo različni sekundarni minerali (npr. oksidi železa in aluminija, hidroksidi, organsko mineralne sestavine) in alumosilikatni minerali glin, ki so z vidika mineralne prehrane rastlin še posebej pomembni, saj imajo zaradi svoje negativno nabite površine veliko sposobnost zadrževanja kationov v tleh. Pri preperevanju pa nastajajo tudi karbonati, sulfati, fosfati in druge soli alkalijskih (Na, K, Ca, Mg) kovin, ki so nujno potrebni za normalno rast in razvoj rastlin.

Da rastline mineralna hranila lahko privzemajo, morajo biti ta v lahkotopni obliki, torej raztopljena v talni vodi oz. biodostopna. Na biodostopnost mineralnih hranil v tleh vplivajo številni dejavniki, kot so kationska izmenjevalna kapaciteta tal, pH, količina organske snovi in obstoj drugih mineralnih snovi v tleh.

Kationska izmenjevalna zmogljivost tal je odvisna od velikosti talnih delcev. Glineni delci in organsko mineralne sestavine imajo namreč negativno nabito površino in s tem privlačijo pozitivno nabite mineralne snovi, katione. Anione odbijajo, zato ti ostajajo v talni raztopini (slika 2).

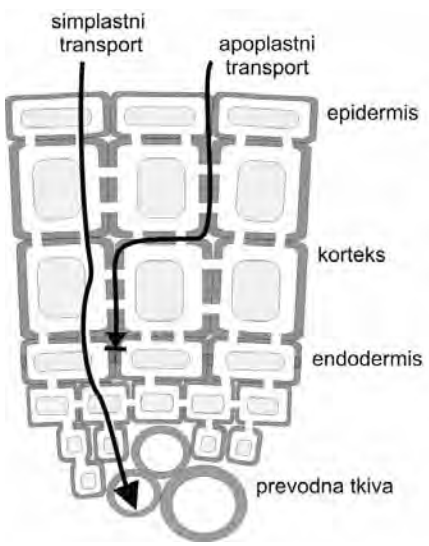


Slika 2: Interakcija korenin s talnimi delci in mineralnimi hranili v talni raztopini.

Na biodostopnost mineralnih hranil v tleh vpliva pH tal. Pri nižjem pH je koncentracija protonov v talni raztopini večja, kar vpliva na izpodrivanje kationov (Ca^{2+}, K^{+}, Mg^{2+} ...) s površine talnih delcev. V zelo kislih tleh (pH < 4) pa začnejo protoni v talni raztopini s površine delcev izpodrivati aluminijeve ione, ki so za rastlinski metabolizem strupeni, zato v kislih tleh uspeva le malo rastlinskih vrst.

Pri višjem pH (pH > 7,5) ostajajo kationi trdneje vezani na površino talnih delcev in s tem slabše dostopni v talni raztopini. Na biodostopnost mineralnih hranil v tleh vplivata tudi vsebnost organske snovi in pa delovanje rastlin samih. Rastline namreč v rizosfero izločajo CO_2, ki je produkt celičnega dihanja, ter različne eksudate oz. koreninske izločke, ki vsebujejo majhne molekule organskih kislin. Poleg organskih kislin lahko rastline iz korenine izločajo tudi fitosiderofore. To so majhni proteini, ki rastlinam pomagajo predvsem izboljšati privzem železa.

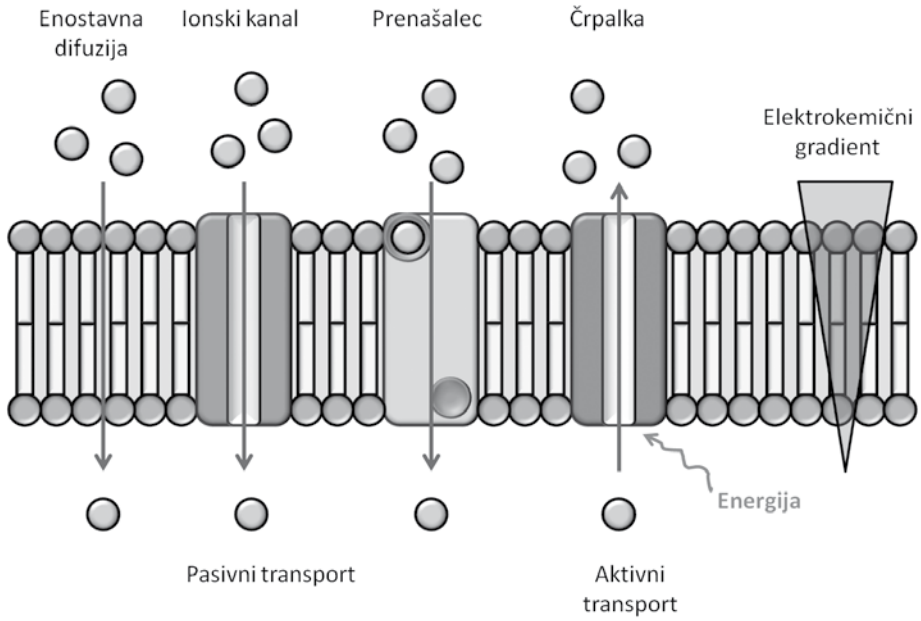
Rastline privzemajo mineralna hranila prek koreninskih vršičkov. Najintenzivneje poteka privzem mineralnih hranil v srkalnem delu korenine, kjer so celice povrhnjice podaljšane v koreninske laske. Privzem nekaterih mineralnih hranil, npr. kalcija, železa, nitrata in fosfata pa lahko poteka tudi v apikalnem in rastnem delu koreninskih vršičkov. Mineralna hranila najprej vstopajo skupaj z vodo z masnim tokom v koreninski apoplast, ki je zgrajen iz celičnih sten in osrednjih lamel (slika 3). Po apoplastu lahko mineralna hranila potujejo v notranjost korenin do endodermisa, kjer pa se transport ustavi. Endodermis, ki obdaja prevodna tkiva, je namreč prevlečen z vodoodbojno plastjo lignina in suberina ter tako preprečuje nenadzorovan vstop vode in topljencev v prevodna tkiva. Da se mineralna hranila lahko naložijo v kislem in potujejo po steblu navzgor v liste, morajo preiti plazemsko membrano. Mineralna hranila lahko vstopajo v simplastni del skozi membrano že v epidermalnem delu korenine in se z masnim tokom prenašajo po citosolu oz. simplastu naravnost do prevodnih tkiv.



Slika 3: Izsek iz prečnega prereza koreninskega vršička z označenim apoplastnim in simplastnim transportom mineralnih hranil (barvne fotografije najdete v spletni učilnici za biologijo: *skupnost.sio.si/course/view.php?id=31)*.

Mineralna hranila vstopajo skozi membrano v citosol s pomočjo transportnih proteinov, medtem ko se voda prenaša skozi membrano s pomočjo akvaporinov. Akva-

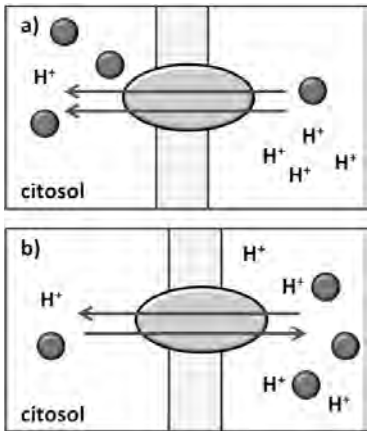
porini, »vodni kanalčki«, so skupina transmembranskih proteinov, ki se uporabljajo za transport vode preko bioloških membran, niso pa zmožni prenašati skozi membrane ionov oz. drugih topljencev. Mineralna hranila se v rastlinske celice prenašajo v obliki ionov oz. kompleksov (npr. železov-citrat). Lahko se prenašajo pasivno, vzdolž elektrokemijskega gradienta ali aktivno, proti elektrokemijskemu gradientu, pri čemer je za to potrebna energija. Pri pasivnem transportu se mineralna hranila lahko prenašajo z enostavno ali s pospešeno difuzijo preko ionskih kanalov oz. prenašalcev (slika 4). Na plazemski membrani najdemo predvsem kationske (K^+, Ca^{2+} in Na^+) in anionske (Cl^-, NO_3^-) kanale.



Slika 4: Tri skupine membranskih transportnih proteinov. Ionski kanali in prenašalci omogočajo prenos topljencev vzdolž gradienta, črpalke pa v nasprotni smeri gradienta, pri čemer je za transport potrebna energija (največkrat ATP). Nekatera mineralna hranila pa lahko skozi celično membrano vstopajo tudi z enostavno difuzijo (NH_3, borova kislina).

Mineralna hranila se lahko prenašajo skozi membrane še s sekundarnim aktivnim transportom. Energijo za prenos topljenca v nasprotni smeri elektrokemijskega gradienta pri tej obliki transporta navadno zagotavlja protonski gradient, ki ga vzdržujejo protonske črpalke, nameščene na plazemski membrani. Mineralna hranila se tako lahko prenašajo v isti smeri kot protoni (simport) ali v nasprotni smeri kot protoni (antiport) (slika 5). Na plazemski membrani tako najdemo NO_3^-/H^+, PO_4^{3-}/H^+, K^+/H^+ simporterje ter Na^+/H^+ antiporterje. Mikrohranila (Fe, Zn, Cu in Mn) se v celice prenašajo s pomočjo »ZIP« in »IRT« transportnih proteinov.

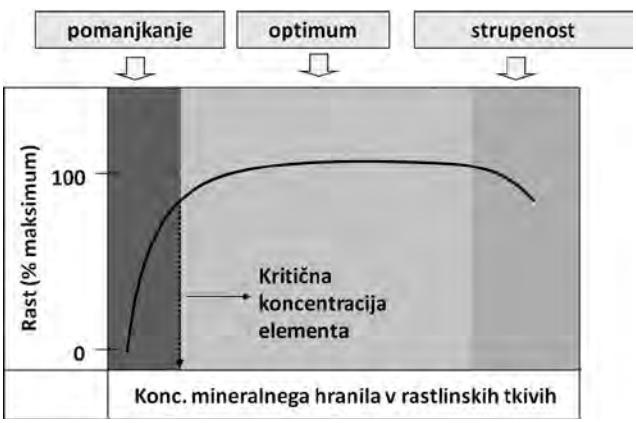
Homeostazo mineralnih hranil v citosolu uravnavajo tudi ionski kanali in prenašalci, nameščeni na membrani vakuole (tonoplastu), kjer najdemo predvsem Ca^{2+}/H^+, Na^+/H^+ in Mg^{2+}/H^+ antiporterje. Koncentracije kalcija v citosolu morajo biti namreč zelo skrbno uravnavane, saj kalcij pri veliko procesih sodeluje kot sekundarni obveščevalec.



Slika 5: Sekundarni aktivni transport, pri čemer se topljenec vedno transportira v nasprotni smeri (lastnega) gradienta, energijo za transport pa zagotavlja protonski gradient. a) simport, b) antiport.

Pomen mineralnih hranil za rast in razvoj

Potrebe po mineralnih hranilih se pri rastlinah spreminjajo z rastjo in razvojem. Pri kulturnih rastlinah lahko količina mineralnih hranil v tleh v določenih razvojnih fazah pomembno vpliva na količino pridelka. Za optimizacijo pridelave in gnojenja posevkov je treba prej opraviti analize vsebnosti mineralnih hranil v tleh, pa tudi v posevkih. Analize skupnih mineralnih hranil v tleh nam namreč ne dajo informacije o dejanski biološki dostopnosti mineralnih hranil v tleh. Najboljši kazalnik biološke dostopnosti mineralnih hranil v tleh so tako vsebnosti mineralnih hranil v rastlinskih tkivih, vendar pa je treba poznati odnose med rastjo rastlin oz. produkcijo rastlinske biomase in koncentracijami mineralnih hranil v tkivih. Slika 6 prikazuje odvisnost rasti rastline od tkivne koncentracije določenega mineralnega hranila. Na krivulji lahko določimo tri območja – območje pomanjkanja, območje optimalne rasti in območje strupenosti. V območju pomanjkanj a je stopnja rasti linearno odvisna od koncentracije mineralnega hranila v tkivih. V območju optimalne rasti povečevanje koncentracije mineralnega hranila v tleh ne vpliva več na rast rastlin oz. na povečanje rastlinske biomase. Ko koncentracija mineralnega hranila v tkivih preveč naraste, se lahko začnejo pojavljati na rastlini znaki strupenosti, rast rastline pa postane zavrta.



Slika 6: Odvisnost rasti rastline od koncentracije mineralnega hranila v tkivih.

Simptomi pomanjkanja nekaterih mineralnih hranil

Ob pomanjkanju mineralnih hranil se na rastlinah razvijejo t. i. simptomi pomanjkanja. Simptomi pomanjkanja se največkrat kažejo v obliki kloroz, to je bledenja oz. razbarvanja listov, oz. nekroz, pri čemer listno tkivo propade, kar se kaže v obliki rjavih pik oz. lis na listih. Simptomi pomanjkanja se lahko kažejo na starih ali pa na mladih listih, kar je odvisno od mobilnosti elementov v rastlinskem organizmu. Pri mobilnih elementih, kamor spadajo dušik, fosfor, magnezij, kalij, cink, klor, natrij in molibden, se simptomi pomanjkanja najprej kažejo na starih listih, saj se omenjana mineralna hranila ob pomanjkanju remobilizirajo iz starih listov in se prenašajo v mlade poganjke. Pri manj oz. nemobilnih elementih (kalcij, žveplo, železo, bor, baker) pa se ob pomanjkanju simptomi kažejo najprej na mladih listih. Natančneje so simptomi pomanjkanja nekaterih elementov opisani v preglednici 2.

Prvi odziv na pomanjkanje mineralnih hranil v tleh je tudi bogato razvejan koreninski sistem, saj s povečanjem vlaganja ogljikovih hidratov v koreninski sistem rastline poskušajo najprej povečati svojo površino za sprejem mineralnih hranil.

Evolucijsko pri preskrbi z mineralnimi hranili pomembno vlogo igra simbioza rastlin z mikoriznimi glivami. Rastline namreč mikorizne glive oskrbujejo z ogljikovimi hidrati, glive pa v zameno preskrbujejo rastlino z vodo in mineralnimi hranili, predvsem s fosforjem. Omenjana asociacija naj bi celo omogočila rastlinam prehod na kopno, saj so imele prve kopenske rastline zelo slabo razvit koreninski sistem. Poleg mikorize tvorijo rastline tudi simbiozo z bakterijami, ki fiksirajo zračni dušik in tako izboljšujejo preskrbo z elementom, ki je v naravnih ekosistemih največkrat v pomanjkanju. Rastline v naravi z mineralnimi hranili tudi varčujejo. Jeseni se tako v listih lesnih rastlin klorofil, proteini in nukleinske kisline s pomočjo proteaz in nukleaz razgradijo, dušik, fosfor in magnezij pa se remobilizirajo v prezimne organe.

Preglednica 2: Simptomi pomanjkanja nekaterih elementov (avtorica fotografij: Katarina Vogel-Mikuš)

Dušik	Pomanjkanje se najprej kaže kot zavrta rast rastline, saj je dušik pomembna strukturna in funkcionalna komponenta številnih molekul. Najprej se pojavijo kloroze na starejših listih, pozneje pa lahko ti listi povsem porumenijo in odpadejo. V mlajših listih se ti simptomi pojavljajo postopoma, ker se lahko dušik mobilizira iz starejših listov. Primanjkljaj dušika v sintezi aminokislin lahko vodi do porabe presežkov ogljikovodikovih skeletov, tako da rastline sintetizirajo več ogljikovih hidratov in antocianinov. To vodi v povečano olesenelost rastline in škrlatno obarvanost listov in korenin.	

Kalij	Sprva se pojavljajo kloroze na robovih listov, ki pa se pozneje razvijejo v nekroze na listnih vrhovih. Listi so velikokrat nepravilnih oblik. Podobno kot pri pomanjkanju dušika se tudi pri pomanjkanju kalija simptomi najprej pojavljajo na starejših listih, saj je kalij mobilen element. Stebla teh rastlin so šibka in imajo nenormalno kratke internodije. Pojavljanje rdečkaste obarvanosti je manj pogosto.	
Fosfor	Simptomi, značilni za pomanjkanje fosforja, so zaostala rast pri mladih rastlinah, nenormalna oblikovanost listov in pojavljanje točkastih nekroz, predvsem na starejših listih. Tudi pri pomanjkanju fosforja se lahko pojavi povečana sinteza antocianinov. Pojavljanje kloroz je manj pogosto.	
Magnezij	Značilen simptom pomanjkanja magnezija so kloroze med žilami in na listnih robovih, ki se zaradi mobilnosti elementa najprej pojavljajo na starejših listih. Dodaten simptom pomanjkanja je tudi prezgodnje odpadanje listov.	
Kalcij	Pomanjkanje se jasno pokaže kot nekroze meristemskih regij (koreninski vršiček, vršiček poganjka). Pred nekrozami se lahko včasih pojavi vsesplošna klorotičnost. Koreninski sistem prizadetih rastlin je rjavkast, kratek in močno razvejen.	

Žveplo	Simptomi pomanjkanja so podobni tistim pri pomanjkanju dušika. Tudi pri pomanjkanju žvepla se pojavljajo kloroze, vendar najprej na mlajših listih, saj je žveplo le slabo mobilno. Rast zastane, podobno kot pri pomanjkanju dušika pa se pojavlja tudi akumulacija antocianinov.	
Železo	Podobno kot pri pomanjkanju magnezija se pojavljajo kloroze med žilami, ki pa so omejene na mlade liste, ker je železo manj mobilno od magnezija. Listi lahko ob dolgotrajnem pomanjkanju postanejo povsem beli, saj železo sodeluje pri sintezi klorofila	

2.3.1.1 Praktično delo: Simptomi pomanjkanja izbranih mineralnih hranil pri koruzi in sončnici (povzeto po Likar in Regvar, 2003)

Namen vaje je ugotoviti, kako se kažejo simptomi pomanjkanja izbranih esencialnih elementov pri koruzi in sončnici.

Simptome pomanjkanja mineralnih hranil navadno proučujemo v vodnih raztopinah, kamor smo zamešali ustrezne količine želenih elementov (glej preglednico 3), saj se tako izognemo interakcijam mineralnih hranil z delci substrata. Poleg tega vsi substrati vsebujejo že določene količine mineralnih hranil in je zato težko pripraviti tretmaje s pomanjkanjem točno določenih mineralnih hranil. Dobro je, da vodne raztopine med poskusom prepihujemo z zračno črpalko (primerna je akvarijska črpalka za večje akvarije - 400–600 l), da zagotovimo koreninam preskrbo s kisikom, ker drugače se lahko pojavi koreninska gniloba. Črpalko povežemo z razvodnikom, kamor namestimo cevke (slika 7), ki jih nato uvedemo v čaše s hranilno raztopino.

Material

nekaj dni stare kalice koruze (*Zea mays*) in sončnic (*Helianthus annuus*), 1000- mililitrski merilni valji, 1000- mililitrske čaše z oznakami, pokrovčki za čaše (štiri luknje za kalice), zračna črpalka, cevi, deionizirana voda, popolna hranilna raztopina, hranilne raztopine, v katerih manjka po en od elementov (N, K, P, Ca, Mg, S, Fe), koščki stiroporja ali mehke pene, pH-meter. Steklovina naj bo predhodno očiščena s kislino (1 ml HNO_3/l deionizirane vode), da odstranimo sledi vodnega kamna. Bolje je, da ne uporabljamo plastičnih čaš, ker jih težje očistimo sledi mineralov, kar lahko moti poskus.

Priprava in izvedba praktičnega dela

Semena koruze in sončnic damo kaliti v petrijevke na omočen filtrirni papir. Za poskus uporabimo 4–5 cm velike kalice.

Pripravimo založne raztopine makro- in mikroelementov (preglednici 3, 4). Zaradi lažje izvedbe lahko učenci dobijo že vnaprej pripravljene založne raztopine.

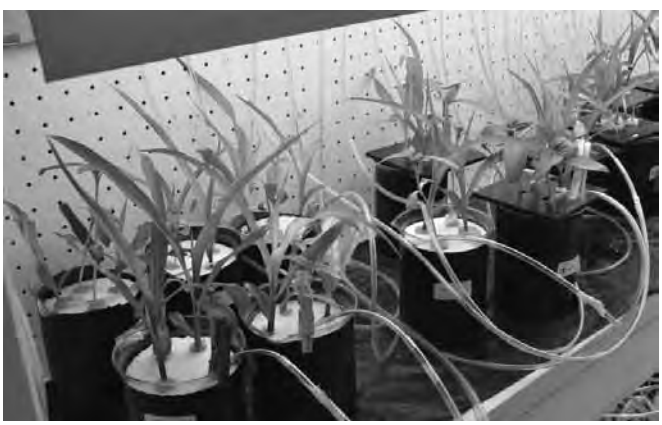
Iz založnih raztopin pripravimo hranilne raztopine z manjkajočimi mineralnimi hranili (preglednica 3). Ustrezno količino založnih raztopin makroelementov odpipetiramo v merilne valje, prav tako pa v merilni valj odpipetiramo še po 0,8 ml založne raztopine mikroelementov in do oznake 800 ml merilni valj dopolnimo z deionizirano vodo.

pH raztopine umerimo na 6, saj so hranila v rahlo kislem mediju dostopnejša, s tem pa tudi preprečimo adsorpcijo mineralov na stene steklenih čaš. pH umerimo z dodajanjem HCl oz. KOH. Pri raztopini s pomanjkanjem kalija lahko uporabimo NaOH.

Po dve koruzi in dve sončnici stisnemo med dva koščka stiropora ali mehke pene in jih učvrstimo v odprtine v pokrovih čaš. V čaše potopimo cevke, povezane z akvarijsko zračno črpalko, s katero koreninam, potopljenim v raztopine, dovajamo zrak (slika 7). Da zagotovimo dobro prezračevanje, plastične cevke na koncu zatalimo in jih ob strani v dolžini 3–4 cm drobno naluknjamo z vročo iglo. S tem zagotovimo izhajanje večje količine majhnih mehurčkov, ki so potrebni za ustrezno prezračevanje. Uporaba akvarijskih kamenčkov ni priporočljiva, ker se iz njih odtapljajo mineralne snovi (npr. Ca), ki lahko motijo poskus.

Čez tri tedne si rastline ogledamo in si zapišemo vse razlike med kontrolnimi rastlinami, ki so rasle v polni hranilni raztopini, in rastlinami, ki jim je primanjkoval izbran element. Pozorni smo predvsem na barvo listov (bledenje ali kloroze, morebitno vijolično obarvanje), pojavljanje rjavih pik in madežev na listih (nekroze), obliko listov (ali so listi deformirani), pri čemer posebej pregledamo mlade in stare liste. Pozorni smo tudi na obliko, barvo in velikost vršička poganjka ter obliko, barvo in velikost koreninskega sistema.

Rastline nato ločimo na korenine in poganjke in posamezne organe stehtamo ter med posameznimi tretmaji primerjamo mase poganjkov, mase korenin in razmerja v masi med poganjki in koreninami.



Slika 7: Hidroponski sistem gojenja sončnice in koruze ob pomanjkanju izbranih elementov. Raztopine prepihujemo s pomočjo akvarijske zračne črpalke, da dovajamo koreninam kisik.

Preglednica 3: Priprava raztopin z manjkajočimi mineralnimi hranili.

Založna raztopina	**Volumen založne raztopine, ki jo dodamo v 800 ml H_2O (v ml)**								
	Polna	**-Ca**	**-S**	**-Mg**	**-K**	**-N**	**-P**	**-Fe**	**H_2O**
100 ml 0,5M $Ca(NO_3)_2$	4	0	4	4	4	0	4	4	0
100 ml 0,5 M KNO_3	4	4	4	4	0	0	4	4	0
100 ml 0,5 M $MgSO_4$	1,6	1,6	0	0	1,6	1,6	1,6	1,6	0
100 ml 0,5 M KH_2PO_4	0,8	0,8	0,8	0,8	0	0,8	0	0,8	0
40 ml FeNaEDTA	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0	0
Mikroelementi	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0
100 ml 0,5 M $NaNO_3$	0	4	0	0	4	0	0	0	0
100 ml 0,5 M $MgCl_2$	0	0	1,6	0	0	0	0	0	0
100 ml 0,5 M Na_2SO_4	0	0	0	1,6	0	0	0	0	0
100 ml 0,5 M NaH_2PO_4	0	0	0	0	0,8	0	0	0	0
100 ml 0,5 M $CaCl_4$	0	0	0	0	0	4	0	0	0
100 ml 0,5 M KCl	0	0	0	0	0	4	0,8	0	0

Preglednica 4: Raztopina mikroelementov.

Mikroelementi	**Molek. masa**	**Založna razt. (mM)**	**Založna razt. (g l^{-1})**
KCl	74.55	25	1.864
H_3BO_3	61.83	12.5	0.773
$MnSO_4 \cdot H_2O$	169.01	1	0.169
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	287.54	1	0.288
$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	249.68	0.25	0.062
Na_2MoO_4	241.95	0.25	0.06

* Dodamo po 0,8 ml v vsako čašo.

Pričakovani rezultati

Simptomi pomanjkanja elementov se začnejo kazati šele po 2–3 tednih, saj imajo kalice navadno zalogo mineralnih hranil, ki so jo dobile iz založnih tkiv semena. Najbolj tipično se kažejo simptomi pomanjkanja železa, pri čemer listi postanejo popolnoma beli, in kalcija, kjer gre za viden propad vršička, še posebej pri sončnici. Na splošno je sončnica (dvokaličnice) veliko bolj občutljiva na pomanjkanje kalcija kot koruza, kar povezujemo predvsem z zgradbo celične stene. Pri dvokaličnicah celične stene namreč vsebujejo večji delež pektinskih komponent kot pri enokaličnicah.

Pri pomanjkanju dušika in fosforja se pojavlja rdečkasta obarvanost listov in korenin, pri čemer se pri pomanjkanju fosforja razvijejo še nekroze na listih.

V omenjeni vaji je poudarek na pomanjkanju elementov. Kot dodatno nalogo lahko dijaki nastavijo tudi poskus, kjer izberejo določen element, ki ga dodajo v hranilno raztopino v različnih koncentracijah (npr. naredijo koncentracijsko vrsto za posamezni element).

Preverjanje znanja

1. Nariši graf, ki bo prikazoval odvisnost mase poganjkov, korenin in razmerja v masi med poganjki in koreninami od obstoja oz. neobstoja določenih (izbranih) mineralnih hranil in mikroelementov.
2. Izberi nekaj primerov esencialnih kemijskih elementov ter primerjaj njihovo biokemijsko vlogo v rastlinski in živalski celici.
3. Kako bi pojasnil večjo občutljivost sončnice na pomanjkanje kalcija v primerjavi s koruzo?
4. Kaj bi se zgodilo, če bi v hranilno raztopino dodali močno povečane koncentracije kalija? Razloži odzive rastline na podlagi sprememb v osmotskem tlaku!
5. Kalcij igra vlogo sekundarnega obveščevalca tudi pri živalih. Opiši vlogo kalcija kot sekundarnega obveščevalca.
6. Opiši pomen občasnega sejanja rastlin, ki tvorijo simbiozo z bakterijami, ki vežejo zračni dušik, na kmetijske površine.
7. Zakaj je treba hranilno raztopino, v kateri gojimo rastline, prepihovati?

Literatura

1 *Likar, M., Regvar, M. (2003). Praktikum fiziologije rastlin. Zbirka Scripta. Ljubljana: Študentska založba.*

2 *Marschner, H. (1995). Mineral nutrition of higher plants. 2nd edition. London: Academic Press.*

3 *Taiz, L., Zeiger, E. (2006). Plant physiology. 4th edition. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates, Inc. Publishers.*

2.3.2 Kineze in taksije pri prašičkih *(Trachelipus rathkii)*

Dr. Dušan Devetak, Katedra za fiziologijo živali in etologijo, Oddelek za biologijo, Fakulteta za naravoslovje in matematiko, Maribor

Povzetek

V tem prispevku opisujemo laboratorijsko delo, pri katerem dijaki proučujejo orientacijske odzive prašičkov na preproste dražljaje. Najprej so predstavljeni tigmotaktični in tigmokinetični odzivi živali na mehansko strukturiranost umetne podlage, nato so opisani higrokinetični odzivi na podlago z različno vlažnostjo. V zaključku razpravljamo, kateri receptorji so pri omenjenih vedenjskih odzivih udeleženi in kje na telesu so.

Trajanje izvedbe: dve uri.

Povezave z biološkimi koncepti in cilji

- razumevanje vloge prirojenih prožilnih mehanizmov, ključnih dražljajev in prožilcev;
- spoznavanje preprostih vedenjskih odzivov na dražljaje v okolju: kineze in taksije;
- spoznavanje pomena poskusov na živalih.

Medpredmetne povezave: *psihologija*.

Uvod

Na številna gibanja živali, pa naj gre za milimetrske premike ali pa selitve, dolge več tisoč kilometrov, dednost posredno močno vpliva. Na ta gibanja organizma vplivajo interakcije med okoljem in organizmom oz. njegovim dedno določenim ustrojem. Preprosta gibanja, na katera ima dednost posredni vpliv, so kineze in taksije.

Kineza je preprost, neusmerjen odziv organizma na določen dražljaj. Kaže se kot sprememba dejavnosti ali vedenja.

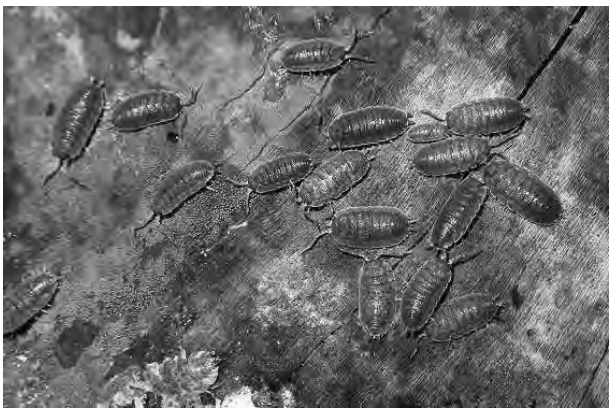
Nekateri kopenski nevretenčarji, ki se radi zadržujejo na vlažnih krajih, se odzovejo na vlažnost s posebnim gibanjem, *higrokinezo*. Takšni so številni talni členonožci – nekateri pajkovci (paščipalci, pršice), stonoge, žuželke in med raki prašički. Členonožec postane dejavnejši v bolj suhem okolju, na vlažnem pa se umiri. Čeprav se žival ne giblje neposredno proti dražljaju ali stran od njega, pa živahnejše gibanje v bolj suhih razmerah poveča tudi verjetnost, da bo členonožec zapustil suho območje in vstopil na vlažno. Ker pa se njegova dejavnost pri veliki vlažnosti zmanjša, bo na vlažnem, zanj ugodnem območju tudi obmiroval.

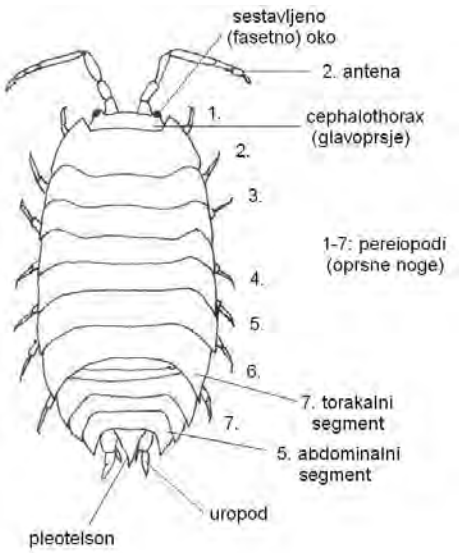
V nasprotju s kinezami so *taksíje* usmerjena gibanja. So gibanja proti določenemu dražljaju (pozitivna taksija) ali stran od njega (negativna taksija).

Številne potočne in rečne ribe, kot je postrv, kažejo *pozitivno reotaksijo* (gr. *rheos*, tok), to pa pomeni, da plavajo samodejno proti vodnemu toku, torej po reki ali potoku navzgor. Ta taksija preprečuje, da bi vodni tok ribe odnesel s sabo, hkrati pa so tako ribe ves čas obrnjene proti vodnemu toku, ki jim na ta način prinaša tudi hrano.

Kuhinjski ščurek je nočna žival, ki se izogiba dnevni svetlobi. Če prižgemo v sobi luč, bo ščurek zbežal stran od vira svetlobe. Takšen odziv živali imenujemo *negativna fototaksija*. Pri taksijah sprejemajo dražljaje parna čutila (senzorični receptorji), s katerimi organizem zaznava morebitne razlike v jakosti dražljajev med levo in desno stranjo telesa. Sporočila iz čutil potujejo v centralni živčni sistem, tam se obdelajo, nato pa se prevedejo v vedenjske odzive, nize ukazov mišicam, ki potujejo do mišic kot impulzi po živčnih vlaknih. Zaradi krčenja mišic se žival premakne.

Pri naših poskusih bomo delali s prašički. Prašički, mokrice ali kočiči (*Oniscoidea*) spadajo med enakonožce (*Isopoda*). So edini pravi kopenski raki. Ker potrebujejo relativno visoko zračno vlago in prenašajo le majhna nihanja vlage, jih opredeljujemo kot *polistenohigre organizme*.





Slika 1: Prašički živijo pod lubjem, v stelji in tudi v vlažnih kleteh (levo). Telesna organizacija prašička (desno) (avtor fotografij in skic: Dušan Devetak).

Ker prašički, podobno kot tudi drugi raki, v kutikuli nimajo zaščitnega sloja z voski, na zraku hitro izgubljajo vodo in se lahko hitro izsušijo. Zato izbirajo habitate z visoko zračno vlago. Pogosto se tesno prileže jo na podlago (na tla ali celo na vrstnike), da na ta način znižujejo stopnjo transpiracije trebušne strani telesa, ki ima tanko kožo. Visoka vlažnost je za prašičke eden najpomembnejših dejavnikov pri izbiri habitata. Pri njegovi izbiri je pomembna tudi hrapavost podlage.

V prvem delu vaje bomo spremljali *tigmotaktične* in *tigmokinetične odzive* prašičkov na mehansko strukturiranost podlage. Uporabljali bomo le okrogle posodice (petrijevke), saj se prašički v oglatih posodicah raje zadržujejo v vogalih, to pa bi

bilo za sam potek poskusa moteče. *Tigmotaksija* je usmerjeno gibanje, kjer se organizem odziva na taktilne dražljaje (dotik), npr. pri stiku s posodico ali vrstnikom. *Tigmokineza* pa je neusmerjeno gibanje, ki je odvisno od različne jakosti taktilnih dražljajev. Iskanje podlage z najprimernejšo površinsko zgradbo (površinsko strukturiranostjo) temelji pri prašičkih na tigmokinetičnem odzivu, torej gre za neusmerjeno gibanje.

V drugem delu vaje pa bomo opazovali in beležili odzive prašičkov na različno vlažnost podlage. Tudi na različno stopnjo relativne vlažnosti se prašički odzivajo neusmerjeno; gre za *higrokinezo*. Kljub neusmerjenosti gibanja pa se »ujamejo« v zanje optimalnem območju vlažnosti. Žival je namreč bolj dejavna v suhem okolju, na vlažnem pa njegova aktivnost upade. Čeprav se žival ne giblje usmerjeno, pa povečano gibanje v suhem okolju tudi poveča verjetnost, da bo prašiček vstopil v vlažno območje. Ker pa se njegova dejavnost pri visoki vlažnosti zmanjša, bo tu tudi obmiroval.

Prašičke najdemo v naravi pod listjem, kamni, lubjem, v malih votlinicah in v drugih »špranjah« z visoko relativno vlažnostjo. Običajno so na podlago tesno prilegli (zmanjševanje transpiracije!). Pri zaznavanju mehanskih lastnosti podlage in objektov so udeleženi mehanoreceptorji – čutilne dlake, ki jih je veliko na obeh parih tipalk (anten) in na hrbtni strani telesa.

Za poskuse bomo izbrali nepoškodovane prašičke in takšne, ki se ne levijo. Živali med levitvijo prepoznamo po tem, da je del kutikule, ki se bo levil, izrazito svetleje obarvan kot kutikula preostalega telesa. Uporabljali bomo le okrogle posodice (petrijevke), saj se prašički zaradi tigmotaktičnega odziva v oglatih posodicah raje zadržujejo v vogalih.

Literatura

1 *Friedlander, C.P. (1964). Thigmokinesis in woodlice. Animal Behaviour 12 (1), str. 164–174.*

2 *Friedlander, C.P. (1964). Do woodlice carry their own hygrometers?. New Scientist, 5 March 1964, Vol. 21, Nr. 381, str. 618.*

3 *Friedlander, C.P. (1965). Aggregation in Oniscus asellus Linn. Animal Behaviour 13 (2–3): 342–346.*

4 *Müller, M. (1988). Orientierungsmechanismen bei der Kellerassel. V: Zupanc, G.K.H.: Praktische Verhaltensbiologie. Berlin: Parey Verlag, str. 93–100.*

Priloga

Eksperimentalni del: Kineze in taksije pri prašičkih

Eksperimentalni del

Kineze in taksije pri prašičkih

Cilji

Spoznati pomen vlage in strukturiranosti podlage za prašičke.

Spoznati taksije in kineze.

Za vajo potrebuješ

Poskusno žival: prašička (*Trachelipus rathkii* ali drugo podobno vrsto).

Pripomočke, material: 3 petrijevke premera 12 do 15 cm, petrijevke premera od 8 do 10 cm, petrijevke premera od 8 do 10 cm z mavčnim dnom, stiropor (30 x 60 cm), čopič, žlička, folija za izdelavo prosojnic, škarje, bucike, papir, flomaster. Petrijevke z mavčnim dnom si sami izdelamo, tako da na dno petrijevke vlijemo tanek sloj v vodi raztopljenega mavca in takšno petrijevko pustimo, da se en dan suši.

S prašički bomo opravili tri poskuse.

1. poskus: Tigmotaksija pri prašičkih

Naloge

1. Opazuj držo tipalk, ko žival leze po sredi petrijevke in tedaj, ko pride do stene petrijevke, ki se je dotakne tipalkami.
2. Zabeleži (skiciraj, opiši) in pojasni držo tipalk v različnih položajih prašička glede na steno petrijevke.

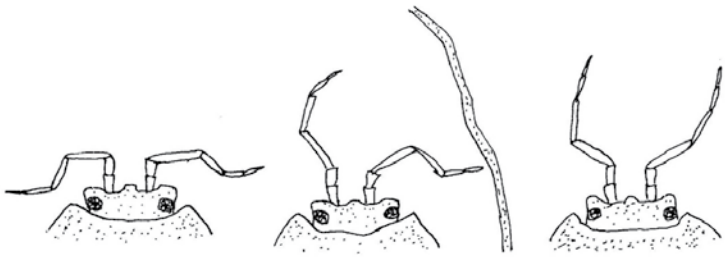
Ureditev poskusa

Prašičke premeščaj nežno, s pomočjo žličke in čopiča. Na podlago iz stiropora namesti papir. Prašička postavi na sredino papirja in ga pokrij z narobe poveznjeno petrijevko (s premerom 8 ali 10 cm). Žival opazuj štiri minute. Prašiček leze od sredine papirja proti periferiji. Ko doseže rob petrijevke, se steklene stene dotakne z drugimi tipalkami. Prve tipalke so namreč prekratke, da bi se z njimi dotikal stene in da bi jih opazovalec lahko videl s hrbtne strani. Pri hoji ob steni petrijevke se prašiček stene s tipalko dotika ves čas.

Rezultati, opažanja

Skiciraj držo tipalk v različnih razmerah. Objekt – steno posodice ali sovrstnika – prašički zatipajo s čutili za dotik (tangoreceptorji), ki jih je veliko na koncu tipalk.

Skica:



Slika 1: Drža tipalk (anten) je odvisna od stika prašička z nekim objektom.

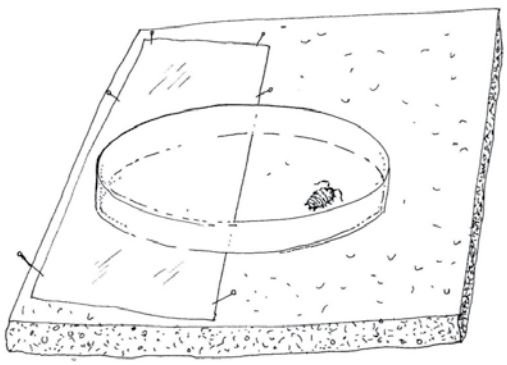
2. poskus: Tigmokineza pri prašičkih

Naloge

Ugotovi, katero izmed dveh različno strukturiranih podlag imajo prašički najraje. Skiciraj razporeditev živali. Rezultate prikaži v tabeli in jih pojasni.

Ureditev poskusa

Prašički preživijo noč v petrijevkah z rahlo navlaženim mavčnim dnom. Na kosu stiropora (30 x 60 cm) bomo sočasno delali s tremi petrijevkami. Pod vsako petrijevko bodo prašički izbirali med dvema različnima podlagama – med stiroporom in prosojnico. Z bucikami pritrdimo na stiropor ustrezno velik kos prosojnice tako, da se bo tesno prilegal podlagi. Petrijevko bomo poveznili čez deset prašičkov tako, da bo ena polovica površine pod petrijevko iz stiropora, druga polovica pa iz gladke strani prosojnice.



Slika 2: Ureditev poskusa za študij tigmokineze.

V začetni fazi – fazi orientiranja – bodo prašički iskali ustrezno podlago. Pogosto bo pri stiku z neugodno podlago prišlo do spremembe smeri gibanja; takšen odziv poimenujemo *klinokineza*. Povečano gibanje v neugodnih razmerah (na gladki podlagi) bo povečalo verjetnost, da bodo živali zapustile gladko podlago in prešle na bolj hrapavo območje, na papir. Čez čas se prašički začno izogibati gladki površini. Gre za *tigmokinetično vedenje*, kjer se prašički izogibajo stiku z gladko površino. Raje imajo strukturirano podlago. Nekateri avtorji odziv prašičkov, ki bežijo z gladke površine, opisujejo kot *fobotaksijo*.

Na prosojnici, ki jo položiš čez petrijevko, skiciraj obliko petrijevke, označi oba predela in zabeleži (skiciraj) tudi položaj vseh desetih prašičkov po 2, 5 in 10 minutah. Tak protokol opravi za vse tri petrijevke. Nato prašičke vrni v petrijevko z visoko vlažnostjo (ali v terarij), da se ne bi izsušili.

Rezultati, opažanja

V poročilo vključi skice, ki prikazujejo razporeditev prašičkov na ustrezni podlagi po treh časovnih intervalih. Razporeditev zapiši tudi tabelarično (število prašičkov po določenem času v določenem sektorju). Razloži, zakaj se število prašičkov na gladki podlagi razlikuje od števila prašičkov na bolj hrapavi podlagi.

Skice:

Preglednica 1: Razporeditev prašičkov na določeni podlagi po 2, 5 in 10 minutah. V stolpce vpiši število prašičkov na obeh podlagah po 2, 5 in 10 minutah.

	1. petrijevka ***N* = 10 osebkov**		**2. petrijevka** ***N* = 10 osebkov**		**3. petrijevka** ***N* = 10 osebkov**	
podlaga	stiropor	prosojnica	stiropor	prosojnica	stiropor	prosojnica
2 min						
5 min						
10 min						

Diskusija:

3. poskus: Higrokineza pri prašičkih

Naloge

Ugotovi, katero izmed treh različno vlažnih podlag imajo prašički najraje. Rezultate prikaži v tabeli in jih pojasni.

Ureditev poskusa

Pri tem poskusu je še posebej pomembno, da prašički preživijo noč v petrijevkah z manj navlaženim mavčnim dnom. Vlage v petrijevkah ne sme biti preveč. Prašički bodo med po-

skusom izbirali med tremi različno vlažnimi podlagami. Na kosu stiropora bomo sočasno delali s tremi petrijevkami. Pod vsako petrijevko namestimo tri enako velike kose papirja tako, da se ne stikajo med sabo. En kos papirja naj bo suh, drugi naj bo rahlo vlažen, tretji pa bolj vlažen. Robove papirja pod petrijevko pritrdiš z bucikami, da se ne gubajo. Prašički se namreč radi skrijejo pod papir. Med poskusom uporabi deset prašičkov na petrijevko. Na prosojnici, ki jo položiš čez petrijevko, skiciraj obliko petrijevke ter označi vse tri predele, nato pa zabeleži (skiciraj) položaj vseh desetih prašičkov po 2, 5 in 10 minutah. Tak protokol opravi za vse tri petrijevke. Tudi pri tem poskusu prašičke čim prej vrni v posodo z visoko vlažnostjo.

Rezultati, opažanja

Prikaži razporeditev prašičkov na ustrezni podlagi po treh časovnih intervalih na skicah. Razporeditev zapiši tudi tabelarično (število prašičkov po določenem času v določenem sektorju). Razloži, zakaj se razlikujejo števila prašičkov na različno vlažnih podlagah.

Preglednica 2: Razporeditev prašičkov na različno vlažnih podlagah po 2, 5 in 10 minutah. V stolpce vpiši število prašičkov na različno vlažni podlagi.

	1. petrijevka ***N* = 10 osebkov**			**2. petrijevka** ***N* = 10 osebkov**			**3. petrijevka** ***N* = 10 osebkov**		
podlaga	suha	manj vlažna	bolj vlažna	suha	manj vlažna	bolj vlažna	suha	manj vlažna	bolj vlažna
2 min									
5 min									
10 min									

Diskusija:

Odgovorite na vprašanja

1. Razložite, zakaj je v prvem primeru gibanja prašičkov šlo za tigmotaksijo, v drugem pa za tigmokinezo.
2. Opišite in pojasnite, kaj prašičkom omogoča, da ob gibanju zaznajo rob petrijevke in gibanje usmerijo drugam.
3. Na podlagi telesnega ustroja prašičkov pojasnite, zakaj je vlažna podlaga za prašičke primernejša kot suha.
4. Pojasnite, zakaj je gibanje prašička v okolju z različno vlažnostjo navidezno usmerjeno.

Pri zaznavanju objektov v okolici, kot so sovrstniki in stena posodice, so zelo verjetno udeleženi mehanoreceptorji – čutilne dlake, ki jih je veliko na obeh parih tipalk (anten), na hrbtni strani telesa in na bokih.

2.3.3 Raziskovanje delovanja srca s pomočjo EKG-senzorja

Sonja Marušič, Srednja šola Veno Pilon Ajdovščina

Povzetek

Gradivo vsebuje teoretične osnove zgradbe in delovanja srca z vidika elektrokardiografije. Opisani in razloženi so osnovni pojmi ter fiziologija srčne mišice v povezavi z EKG.

Na teoretično osnovo, ki je predvsem namenjena učitelju, je vezana vaja merjenje EKG z Vernierjevimi vmesniki, ki jo izvedemo z dijaki.

Čas trajanja dejavnosti

Dejavnost lahko izpeljemo v eni šolski uri s skupino do 17 dijakov. Glede na to, da je na večini šol le en EKG-senzor, je smiselno, da določimo vrstni red dvojic. Dvojica dijakov izvede meritve relativno hitro (5 minut ali malo več), drugi pa v tem času odgovarjajo na vprašanja in rešujejo naloge na koncu delovnega lista. Ko vsaka dvojica opravi meritev, senzor odstopi naslednji dvojici, ki se je pred tem že pripravila. Vse druge naloge lahko opravijo na računalniku brez senzorja (merjenje dolžin intervalov, frekvence srca ipd.).

Dejavnost lahko izvedemo kot demonstracijo.

Alternative za izvedbe vaje

Vajo lahko izvedemo v obliki sodelovalnega učenja v sklopu zgradbe in delovanja človeškega telesa. V tem primeru poleg EKG-senzorja uporabimo še senzor za merjenje frekvence dihanja, količine CO_2 ali O_2 v izdihanem zraku, spirometer, ali pa vajo navežemo na krvne celice, zgradbo srčnega mišičnega tkiva, žile, z ogledom trajnih mikroskopskih preparatov. Odločitev je odvisna od velikosti skupine in razpoložljivega časa.

Glede na razpoložljivi čas in namen izvedbe ter seveda skupino dijakov, s katero vajo izvajamo, lahko naredimo vaje v različnih situacijah (vsaka meritev naj v tem primeru traja vsaj 15 sekund), npr.:

- v ležečem položaju z normalnim dihanjem in z globokim dihanjem,
- v sedečem položaju z normalnim dihanjem in z globokim dihanjem,
- po krajši (vsaj 30 počepov, tek na mestu 60 sekund ...) in daljši fizični dejavnosti,
- merjenje EKG ob globokem dihu in zadržanem dihu, v tem primeru naj bo čas merjenja dejavnosti vsaj 30 sekund. V tem zadnjem primeru je mogoče dober način izvedbe z merjenjem EKG 60 sekund, v katerih testiranec prvih dvajset sekund enakomerno diha, naslednjih 20 sekund zadrži dih, v zadnjih 20 sekundah pa globoko diha.

Dobljene grafe izbranih primerov nato primerjamo z grafi EKG, ki smo jih posneli s testirancem v mirovanju.

Primerjamo lahko spremembo srčnega utripa, čas trajanja posameznih valov ali čas trajanja posameznih intervalov, višino R-vala ipd.

Individualna izvedba vaje

Čas v okviru pouka največkrat ne dopušča, da bi vajo nadgrajevali. Toda če se pokaže zanimanje pri dijakih, lahko vajo izvedejo individualno in rezultate predstavijo v razredu. Primer takšne dodatne vaje, ki jo je dijakinja izvedla sama, je predstavljen na koncu prispevka.

Povezava z biološkimi koncepti

- B – Raziskovanje in poskusi
- C – Zgradba in delovanje celice: C1 (8,9,11)
- F – Zgradba in delovanje organizmov: F3 (49-55, 63-67)
- I – Biološke osnove zdravega življenja: I 16,19,21-27
- K – Kako deluje znanost: K (5-12)
- L – Biologija celice: L (7, 8, 10)
- M – Fiziologija človeka: M (2-7)
- N – Ekologija, biotska pestrost in evolucija: N (3, 11, 15)

Medpredmetne povezave

- *matematika*: uporaba preprostih matematičnih orodij,
- *informatika*: uporaba IKT-opreme in uporaba Logger-Pro, urejanje in interpretacija grafov,
- *fizika*: pretok, tlak, upor, frekvenca, električna napetost, dipol,
- *zdravstvena vzgoja*: zdrav življenjski slog,
- *kemija*: ioni v citosolu in medcelični (intersticiju), koncentracijski in električni gradient.

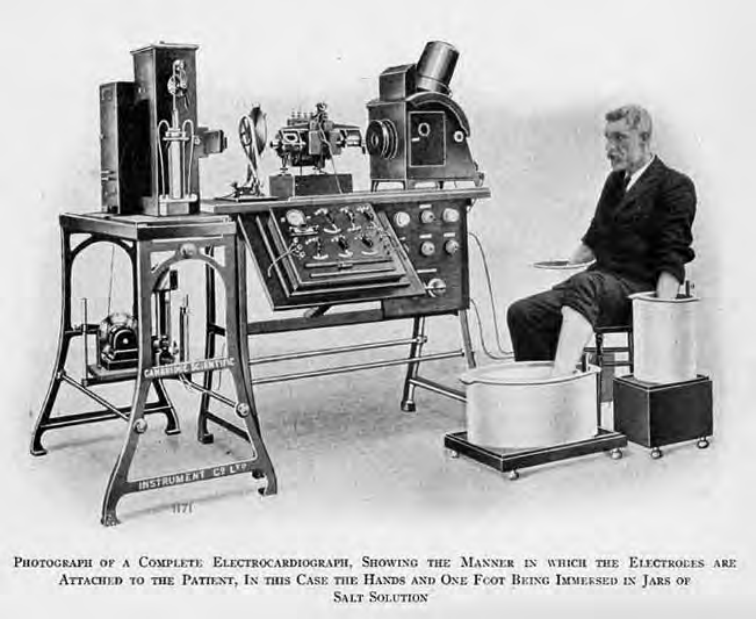
Uvodna vsebinska izhodišča

Znanstveniki, ki so prispevali k odkritju delovanja srca:

- *Jan Evangelista Purkyně* (1787–1869). Češki anatom in fiziolog, ki je 1839 odkril fibrozna vlakna, ki vodijo električne impulze iz atriventrikularnega vozla v vse dele ventriklov. Po njem ta vlakna imenujemo Purkynjejeva vlakna.
- *Wilhelm His* (1863–1934), švicarski kardiolog, ki je leta 1893 odkril specializirana mišična vlakna (po njem imenovana Hisov snop), ki ležijo v srčnem pretinu, med levimi in desnimi srčnimi votlinami. Ugotovil je,

da so ta specializirana vlakna ključna za ritmično krčenje posameznih delov srca.

- *Willem Einthoven* (1860–1927), nizozemski fiziolog, ki je leta 1903 izumil prvi EKG in je leta 1924 za to prejel Nobelovo nagrado za medicino. Fotografija prve elektrokardiografske naprave je na sliki 1.



PHOTOGRAPH OF A COMPLETE ELECTROCARDIOGRAPH, SHOWING THE MANNER IN WHICH THE ELECTRODES ARE ATTACHED TO THE PATIENT, IN THIS CASE THE HANDS AND ONE FOOT BEING IMMERSED IN JARS OF SALT SOLUTION

Slika 1: Eden prvih elektrokardiografov. Vir: *http://en.wikipedia.org/wiki/Willem Einthoven* (23. 5. 2012).

S povečevanjem telesne velikosti živali se je v evoluciji pojavila potreba po učinkovitejši oskrbi celic s hranilnimi snovmi in učinkovitejšem odvajanju metabolnih produktov. Difuzija in različne oblike aktivnega transporta omogočajo učinkovito oskrbo le na zelo kratke razdalje, ki jih merimo v µm. Izmenjava snovi med celicami in okoljem poteka preko celične membrane, vendar je v večjih organizmih zunanje okolje zelo oddaljeno od membrane večine celic. Pri mnogih organizmih izmenjavo dodatno otežuje telesna površina, katere naloga je predvsem zaščititi notranje okolje organizma pred zunanjimi vplivi.

Za zagotavljanje primerne oskrbe celic so se razvile različne oblike transportnih sistemov. Načeloma jih gradijo žile, po katerih se pretaka kri – transportna tekočina, in srce – mišičast organ, ki deluje kot črpalka in tlačilka obenem ter s svojim mehanskim krčenjem omogoča pretok krvi po žilah. Za sesalce je značilen zaprt krvožilni sistem z dvojnim krvnim obtokom. Pljučni krvni obtok poskrbi za to, da se kri obogati s kisikom, sistemski ali telesni krvni obtok pa oskrbuje celice s potrebnimi snovmi (hranili in kisikom) in iz celic odnaša nerabne produkte presnove. Izmenjava snovi poteka med kapilarami in medceličnino, iz medceličnine do celice snovi potujejo z difuzijo, v celico pa vstopajo v odvisnosti od narave snovi (z difuzijo, olajšano difuzijo, aktivnim transportom).

Srce s svojo značilno zgradbo in usklajenim krčenjem (kontrakcijo) omogoča stalen tok krvi po žilah in stalno oskrbo celic. Če levo in desno srce obravnavamo kot

dve ločeni črpalki (kar je dopustna poenostavitev), potem vidimo, da sta sistemski in pljučni krvni obtok vezana zaporedno, drug za drugim v krogu. Nasprotno velja, da so organi in tkiva s svojim žiljem v sistemski krvni obtok praviloma vezani kot vzporedno vezane zanke – slika 2 (Bresjanac, Rupnik, 2011: 15).

Slika 2: Glavni elementi krvnih obtočil (Vir: Bresjanac, Rupnik, 2011: 15)

Takšna organizacija krvnih obtočil ima velik fiziološki pomen. Pretok skozi žilo ali organ (Q; enačba 1) je namreč premo sorazmeren z razliko tlaka in obratno sorazmeren z uporom (R) proti toku krvi. Vzporedna vezava organov omogoča ločeno uravnavanje pretoka s spreminjanjem upora v žilah posameznih organov, pri tem pa – zaradi hkratnega uravnavanja sistemskega arterijskega tlaka – pretok skozi druge, predvsem ključne organe (npr. možgane), ni moten. (Bresjanac, Rupnik, 2011: 15)

enačba 1

$Q = \Delta P/R$

Q pretok ($l\ min^{-1}$)
ΔP gradient tlaka (mmHg)
R upor ($mmHg\ min\ l^{-1}$)

Pretok skozi sistemski obtok je odvisen predvsem od delovanja levega prekata, ki iztiska kri v aorto, od tu se odcepljajo velike arterije, ki vodijo kri v posamezne telesne dele. Velike arterije se razvejijo v manjše arterije, te v arteriole in arteriole v kapilare. Kapilare so kraj izmenjave snovi (hranilnih snovi in plinov) med krvjo in medceličnino (intersticijem). Iz kapilar se kri vrača po venulah in venah v zgornjo in spodnjo telesno dovodnico ter od tu v desni preddvor.

Kri skozi pljučni obtok poganja desni prekat, ki se polni iz desnega preddvora, in iztiska kri v pljučno deblo, od tod pa v pljučne arterije, arteriole in kapilare. Med kapilarami in pljučnimi alveoli poteka izmenjava plinov z difuzijo. Po pljučnih venah teče kri bogata s kisikom v levi preddvor in od tod v levi prekat.

Razlika v debelini srčne mišične stene med levo in desno polovico srca pomeni prilagoditev na zagotavljanje različnih tlakov v levi oziroma desni polovici srca, kar je ključno za uspešno in učinkovito funkcijo pljučnega in sistemskega obtoka.

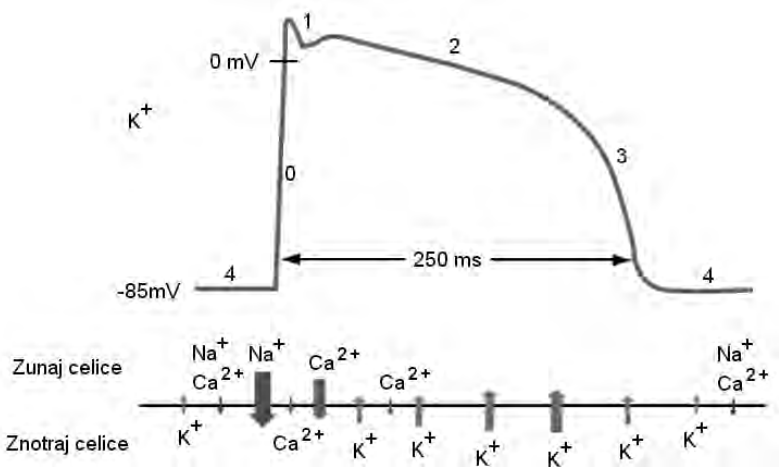
V sistemskem obtoku je še kako potreben sorazmerno visok krvni tlak (120/80 mm Hg), da se premaga sila upora, ki ga nudi veliko število in razvejanost arterij in arteriol, obenem pa kljub uporu sten žil ostaja tlak v kapilarah dovolj visok, da omogoča izcejanje seruma v medcelično in s tem omogoča oskrbo tkiv in celic.

Nasprotno, tlak v pljučnem obtoku ne sme biti previsok (sistolični tlak ~ 25/10 mm Hg) in dejansko je sila, ki potiska kri iz desnega prekata približno šestkrat manjša od tiste, ki potiska kri iz levega prekata. Previsok tlak bi lahko poškodoval nežni enoplastni epitel pljučnih kapilar, še večji problem pa bi nastal z izcejanjem krvne plazme, ki bi zalila pljučne mehurčke in povzročila embolijo.

Osnove elektrokardiografije

Elektrokardiogram, EKG, je zapis spreminjanja in potovanja električnih potencialov na srcu, ki so posledica vzdraženja srčnih celic (zapis električnega delovanja srčne mišice).

Srčno mišičje (miokard) delimo na delovni miokard in ritmovnike. Delovni cikel srca vodijo ritmovniki. To so skupine posebej vzdražnih srčnih mišičnih celic, ki spontano prožijo in pospešeno prevajajo akcijske potenciale. Pri teh celicah težko opredelimo mirovno membransko zmogljivost, saj v njih napetost takoj za repolarizacijo drsi k vzdražnemu pragu. Akcijski potenciali iz ritmovnikov se po prevajalnih vlaknih prevedejo po celotni srčni mišici in tam prožijo akcijske potenciale delovnega miokarda. Vzrok za krčenje delovne srčne mišične celice je akcijski potencial, ki se razlikuje od akcijskega potenciala prečnoprogaste mišice. Akcijski potencial srčne mišične celice je sorazmerno dolg, saj traja nekaj desetink sekunde. Mirovni membranski potencial znaša približno –90 mV, depolarizacija pa doseže maksimalno vrednost pri +30 mV.



Slika 3: Štiri faze akcijskega potenciala v celici prekata srca in prehod posameznih ionov v celico in iz nje med akcijskim potencialom. (Vir: Bevc, S., Hojs, N., Zorman, T., 2011)

Akcijski potencial srčne mišične celice (AP) ima pet faz, ki jih označujemo s številkami od 0 do 4. Faza 0 je hitra depolarizacija (od –90 mV do +30 mV), faza 1: počasno spuščanje potenciala proti platoju, faza 2: plato (vrednost potenciala je okrog 0 mV; plato se vzdržuje na račun vstopanja Ca^{2+} ionov v celice), faza 3: repolarizacija celice (odprtje K^+ kanalov), faza 4: spontana depolarizacija celice. (Košnik M., 2011)

Ves čas trajanja akcijskega potenciala je srčna mišična celica refraktarna, kar pomeni, da je v tem času ne moremo električno vzdražiti.

Absolutna refraktarna faza je čas, ko nikakršen dražljaj ne more sprožiti ponovne depolarizacije.

V času relativne refraktarne dobe pa srčno mišično celico lahko ponovno vzdraži le precej močnejši dražljaj od siceršnjega nadpražnega dražljaja.

Funkcionalni pomen refraktarne dobe (nevzdražnosti) je predvsem v tem, da prepreči ponovno vzburjenje in pomaga vzdrževati organizirano depolarizacijo celotnih delov srca (preddvorov in prekatov), omogoča koordinirano širjenje vzburjenja po različnih delih srca brez tveganja, da bi val depolarizacije neurejeno krožil po srčni mišici in sprožil fibrilacijo.

V primeru poškodovanega srčnega tkiva, ki ima spremenjene prevajalne lastnosti in je lahko tudi samo po sebi dražeče, lahko pride do hitrega kroženja vzburjenja in s tem do fibrilacije, kar praviloma pripelje do zastoja srca.

Spontano, ritmično mehanično delovanje srca je posledica posebnih značilnosti dela srčnega tkiva, ki je vir spontane električne dejavnosti v srcu t. i. prevodnega sistema. Ta sistem sestavljajo skupki specializiranih celic v steni srčnih votlin (sinoatrialni in atrioventrikularni vozel) in posebne povezave med njimi in mišičnimi celicami v steni prekatov (Hisov snop in Purkynjejeva vlakna). Vzrok za spontano električno dejavnost celic (delovnega miokarda) leži v prevodnih lastnostih njihove membrane. (Bresjanac, Rupnik, 2011: 16)

Različni deli srca imajo nekoliko različne oblike akcijskega potenciala. Celice sinoatrialnega vozla imajo najhitrejšo spontano depolarizacijo in posledično najvišjo frekvenco utripa, v zdravem srcu ta skupina celic določa njegov ritem.

Če odpove sinoatrialni vozel, prevzame funkcijo drugi del srca, s tem pa se spremeni frekvenca utripov, kar je zanesljiv diagnostični podatek.

Frekvenca srca, ki jo narekuje sinoatrialni vozel, je v mirovanju med 60 in 80 utripi na minuto (pri športnikih tudi manj). Ob odpovedi tega vozla prevzame pobudo atrioventrikularni vozel in frekvenca srca je nižja, okoli 40–60 utripov na minuto. Ob odpovedi obeh prej omenjenih vozlov prevzamejo ritem prekati, frekvenca srca je v tem primeru okrog 20–40 utripov na minuto.

Urejeno, hitro širjenje akcijskega potenciala po vlaknih prevodnega sistema in skozi srčno mišico povzroči krčenje mišičnih celic preddvorov in prekatov v določenem zaporedju: depolarizacija preddvorov povzroči njihovo skrčenje, temu pa sledita depolarizacija in skrčenje prekatov. (Bresjanac, Rupnik, 2011: 16)

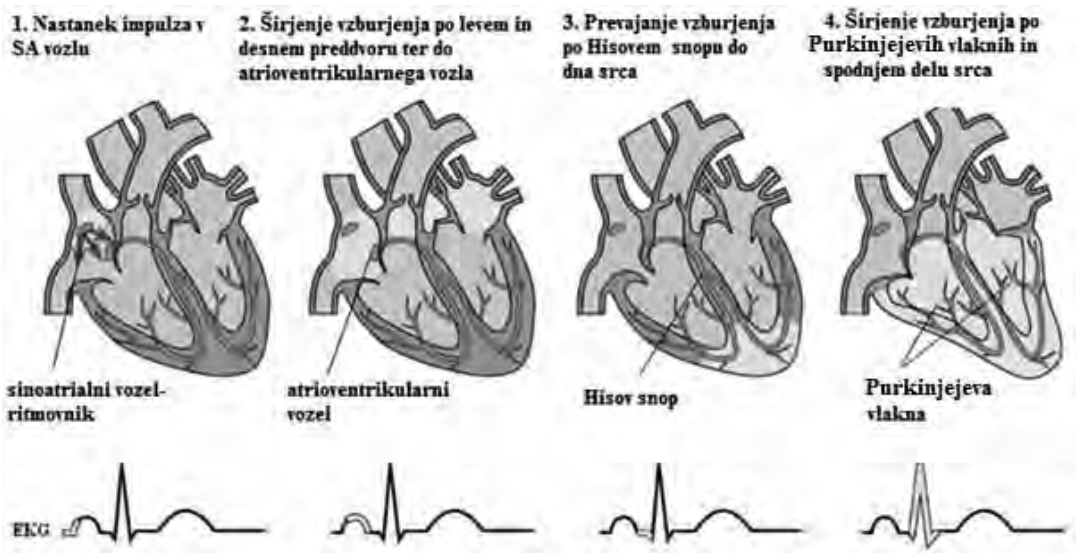
Elektrokardiogram

Tipični elektrokardiogram je sestavljen iz serije značilnih oblik valov, ki se ponavljajo in so posledica zaporedne depolarizacije in repolarizacije vseh celic srčne mišice. Posledica prevajanja akcijskega potenciala iz enega predela srca v drugega je nastajanje napetostnih razlik med posameznimi predeli v srcu, le te pa lahko zaznamo, posnamemo z elektrokardiografom.

Da se srčna mišica skrči, se morajo vzdražiti posamezne srčne mišične celice. V mirovnem stanju je notranjost celice električno negativno nabita v primerjavi z zunanjostjo.

Krčenje srčnih mišičnih celic je pogojeno z *depolarizacijo* (spremembo membranskega mirovnega potenciala) posameznih celičnih membran. Membranski potencial se za trenutek spremeni iz –90 mV v +30 mV. Depolarizacija se pojavi, ko pozitivni natrijevi ioni prehajajo skozi membrano in povzročijo spremembo polaritete membrane, membranske napetosti (iz negativne v pozitivno).

Električna dejavnost v srcu se začne v sinoatrialnem (SA) vozlu (ritmovniku), ki leži v desnem atriju, blizu mesta vstopa zgornje velike telesne vene. Električni impulz se nato hitro širi po desnem preddvoru v levi preddvor in do atrioventrikularnega vozla (AV). Akcijski potencial se od atrioventrikularnega vozla širi po specializiranem prevodnem nitju, ki ga imenujemov Hisov snop. Gre za dva snopa (levi in desni), ki prevajata AP v levi oziroma desni prekat. Od tu se nadaljujejo Purkynjejeva vlakna po notranji steni obeh prekatov, po katerih se širi depolarizacija prekatov od znotraj navzven (od miokarda proti epikardu).



Slika 4: Nadzor srčnega ritma. Slika prikazuje zaporedje električne dejavnosti in posledično krčenje v posameznem delu srca. Slika spodaj prikazuje EKG srca. Z odebeljeno črto so označeni deli grafa, ki odgovarjajo električni dejavnosti v srcu v posamezni fazi. (Vir: Campbell-Reece, 2008: 905)

Zgradba in krčenje srca

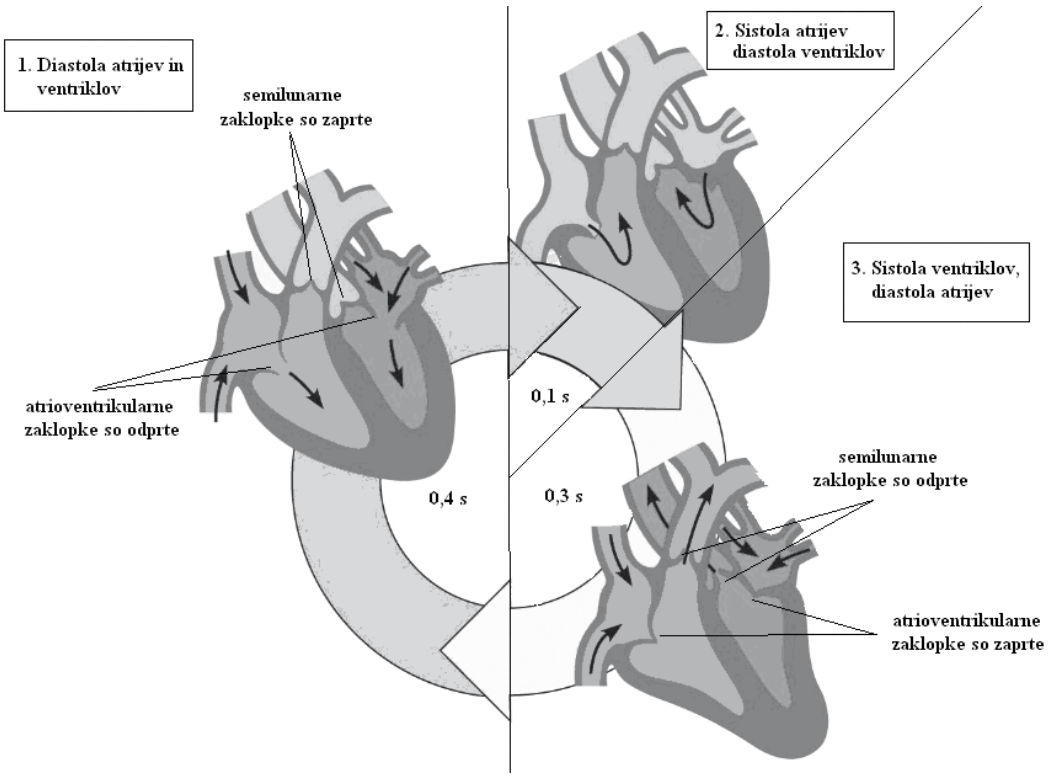
Pred sistolo atrija se atrija polnita s krvjo iz ven in kri pasivno teče iz preddvorov v prekate skozi odprte AV-zaklopke. Med atrialno sistolo se preddvora skrčita, kar povzroči dvig tlaka v preddvorih. Ko tlak v preddvorih preseže vrednost tlaka v prekatih, se odpreta atrioventrikularni zaklopki in kri steče v prekate. Atrialna sistola je zaključena pred pričetkom krčenja prekatov.

Sledita prevajanje depolarizacije po prekatih in krčenje prekatov. Kmalu po začetku krčenja prekatov tlak v prekatih preseže vrednost tlaka v preddvorih, kar povzroči zaprtje atrioventrikularnih zaklopk. Krčenje prekata se nadaljuje, dokler tlak v prekatu ne preseže vrednosti tlaka v aorti. Ko je ta vrednost presežena, se odpreta aortna in pljučna zaklopka in kri steče iz prekatov v odvodnice.

V času repolarizacije prekatov tlak v njih pade pod vrednost tlaka v aorti, zato se zaprejo zaklopke v aorti in pljučni arteriji.

Zapiranje zaklopk povzroči turbulenten tok krvi in vibracije, ki jih na površini prsnega koša lahko slišimo. Zapiranje atrioventrikularnih zaklopk slišimo kot prvi srčni ton in pomeni začetek srčne sistole, zapiranje zaklopk v aorti in pljučni arteriji pa slišimo kot drugi srčni ton in pomeni konec sistole in začetek diastole.

Sistola (faza iztisa krvi iz srca) je normalno krajša od diastole (faza polnjenja srca). Ob povečanju srčne frekvence se krajšanje srčnega cikla skrajšuje predvsem na račun diastole (Bresjanac, Rupnik, 2011: 16).



Slika 5: Srčni cikel: Srčni cikel je zaporedje električnih in mehanskih sprememb v srcu. Pri frekvenci 72 utripov na minuto traja 0.8 s. (Vir: Campbell-Reece, 2008: 904)

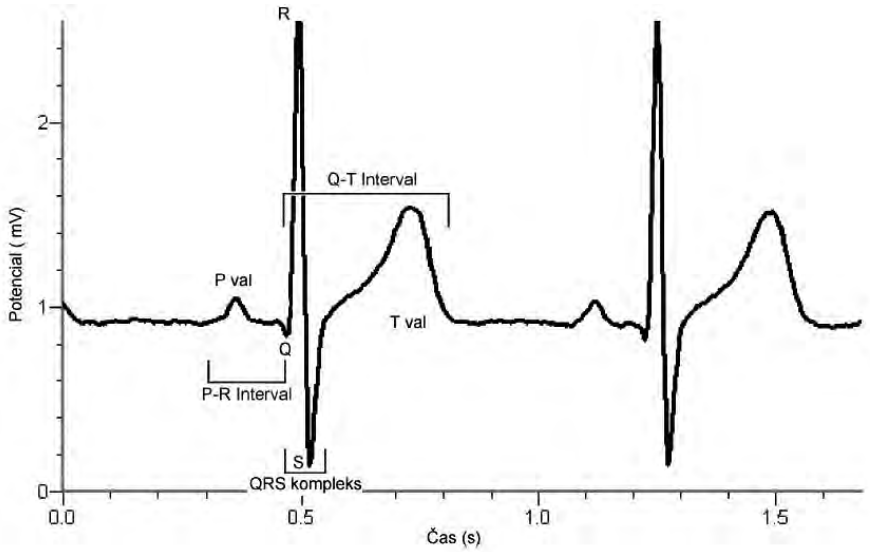
1. Čas relaksacije srca, ko sta atrija in ventrikla v diastoli, kri se vrača iz velikih ven v atrije in ventrikle, skozi atrioventrikularne zaklopke. Sledi depolarizacija sinusnega vozla, temu pa sistola atrijev (2.).
2. Kratek čas atrialne sistole omogoči iztis krvi iz atrijev v ventrikle skozi atrioventrikularne zaklopke.
3. V naslednjem delu cikla, ki traja približno 0,3 sekunde, poteče sistola ventriklov, ki požene kri skozi semilunarne zaklopke iz ventriklov v arterije (aorto in pljučno arterijo).

Utripni volumen in minutni volumen srca

Utripni volumen (UV) predstavlja količino krvi, ki jo srce iztisne v aorto ob enem utripu. V mirovanju znaša utripni volumen okoli 70 ml krvi (pri netreniranih odraslih ljudeh), med obremenitvijo lahko naraste do 140 ml, na račun povečane frekvence srčnih utripov. Pri treniranih športnikih pa lahko preseže 200 ml krvi, na račun razširjenega (»športnega«) srca. To seveda ni bolezensko stanje, temveč kaže povečanje in okrepitev srca kot posledico dolgotrajnega, rednega, vzdržljive-

ga treninga. Predvsem se pojavlja pri tekačih na dolge proge, kolesarjih, veslačih. Bolezensko razširjeno srce nešportnikov je šibko, ima precej tanjšo srčno mišico.

Minutni volumen srca (MVS) je volumen krvi, ki jo srce iztisne v krvni obtok v eni minuti. Odvisen je od frekvence srčnega utripa. Normalno znaša okrog 5 l/min.



Slika 6: Elektrokardiogram (posamezni valovi in intervali). (Vir: *http://www.vernier.com/files/sample_labs/HP-A-12-COMP-analyzing_heart_ekg.pdf*)

Legenda:
P-val – impulz SA-vozla in posledična depolarizacija celic preddvorov, kar povzroči krčenje tega dela srca in potisk krvi iz preddvorov v prekate.
P-R interval je čas od začetka P vala do začetka QRS kompleksa.
QRS–sistem valov predstavlja depolarizacijo prekatov, torej krčenje prekatov in iztis krvi v telesne odvodnice (pljučno arterijo in aorto). Posamezni zobci (Q, R, S) predstavljajo vzburjenje v različnih delih prekatov.
T-val – predstavlja repolarizacijo prekatov, v tem času se že polnijo preddvori.

Elekrokardiografska krivulja nastane kot posledica različnih dejavnosti (depolarizacije in repolarizacije) v posameznih celicah srčne mišice v različnih časovnih zamikih. Elektrogardiogram ima torej značilno obliko zaradi prostorsko časovnega vzorca dejavnosti posameznih srčnih mišičnih celic oziroma zaradi razlik v potencialih med celicami, ki so v danem trenutku depolarizirane, in tistimi, ki imajo mirovni membranski potencial.

Srce s svojo dejavnostjo ustvarja v telesu električno polje, katerega smer in jakost se spreminjata v odvisnosti od tega, kolikšen del srčne mišične mase je aktiviran. To je tudi razvidno iz EKG-ja. Večji zobec (val) v grafu pomeni večjo maso depolariziranih srčnih mišičnih celic (na primer val R) ali repolariziranih srčnih mišičnih celic (na primer val T).

Električno polje nastaja zaradi potencialnih razlik na srcu, se širi po telesu na njegovo površino. Tam ga zaznajo elektrode, ki so povezane z ustreznimi ojačevalci, ki signal ojačajo in elektrokardiograf zapiše spremembe napetosti med dvema točkama.

Elektrokardiografski odvod

S pojmom elektrokardiografski odvod razumemo značilen položaj elektrod na površini telesa med snemanjem delovanja srca. Standardni elektrokardiografski odvodi temeljijo na tradicionalni postavitvi elektrod na telesu in so rezultat zgodnjih raziskav elektrokardiografije. Omogočajo nam, da vedno opazujemo dogodke v srcu na enak način in zapise med seboj primerjamo.

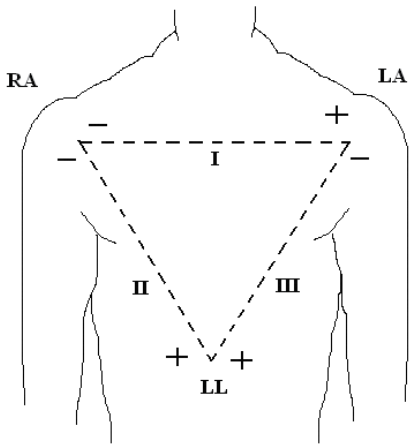
Glede na število in postavitev elektrod, torej glede na vrsto EKG-odvoda dobimo različne elektrokardiograme – zapise delovanja srčne mišice.

V medicini razlikujejo in uporabljajo več vrst postavitev elektrod oziroma odvodov, kar je predvsem odvisno od namena preiskave. V grobem ločimo ekstremitetne odvode, pri katerih namestimo elektrode na okončine, in prekordialne odvode, pri katerih namestimo elektrode na prsni koš.

V predstavljenem praktičnem delu uporabljamo standardne postavitve elektrod po Einthovnu. Gre za tako imenovane bipolarne ekstremitetne odvode. Bipolarni odvodi imajo en pozitiven in en negativen pol ter merijo razliko napetostnih potencialov med dvema elektrodama (pozitivno in negativno).

Izraz Einthovnov trikotnik pomeni enakostranični trikotnik, s središčem na sredini prsnega koša in ogljišči, ki so mesta za standardne postavitve elektrod: na levi in desni rami ter na levi nogi. Znotraj trikotnika lahko par elektrod bipolarnega odvoda namestimo na tri osnovne načine, ki tako predstavljajo tri osnovne odvode EKG. Vsaka stranica trikotnika predstavlja projekcijsko ravnino, na kateri merimo projekcijo prostorsko časovnega potovanja integralnega srčnega dipola.

- I. odvod: negativna elektroda na desni roki, pozitivna na levi roki,
- II. odvod: negativna elektroda na desni roki, pozitivna na levi nogi,
- III. odvod: negativna elektroda na levi roki, pozitivna na levi nogi.
- Pri vsakem odvodu imamo na telesu, najpogosteje na nogi, nameščeno še elektrodo, povezano na ozemljitveni vhod ojačevalnika, s katero stabiliziramo signal in odstranimo elektromagnetne motnje.



Slika 7: Položaj elektrod med snemanjem standardnega EKG, standardni bipolarni odvodi (I, II in III) (Vir: Barovič, V., 2004).

Iz EKG-zapisa lahko ugotavljamo spremembe v delovanju srca, opazujemo frekvenco srčnega utripa, ritmičnost utripa pa tudi poškodbe ali spremembe na samem srčnem tkivu (zadebelitev – hipertrofijo miokarda in spremembe prevajanja ob propadu dela miokarda zaradi srčnega infarkta.)

Normalen srčni ritem in motnje srčnega ritma (aritmije)

Normalen srčni ritem narekuje sinoatrialni vozel, zato ga imenujemo tudi sinusni ritem. Zanj so značilni vsi valovi, ki jih pričakujemo v EKG-posnetku:

- vsi P-valovi, ki so enake oblike,
- vsakemu P-valu sledi QRS-kompleks v razdalji od 120 do 200 ms,
- vsi QRS-kompleksi so normalno široki in razdalje med QRS-kompleksi so enake,
- frekvenca utripa je med 60 in 80 utripi na minuto.

Kot smo omenili, je normalni srčni ritem zdravega srca pri povprečnem, netreniranem človeku med 60 in 80 udarci na minuto. Pri atletih je srčni utrip nižji, celo okrog 40 udarcev na minuto (med 30 in 50 udarci na minuto), kar je odvisno od fizične pripravljenosti posameznika, starosti osebe in spola. Tudi večji telesni napor ali razburjenje pospešita bitje srca in posledično povečata srčni utrip. Vendar v teh primerih ne govorimo o motnjah srčnega ritma.

Maksimalna frekvenca (maximal heart rate - HR_{max}) srčnega utripa, torej najvišja hitrost utripa, ki jo je srce sposobno dosegati ob naporu, je obratno sorazmerna s starostjo in zato višja pri mlajših. Zelo približno in grobo jo lahko ocenimo tako, da jo izračunamo po formuli 2. Vrednost maksimalne frekvence srca precej uporabljajo v fitnesu za izračun obremenitve organizma v smislu aerobne vadbe.

$$HR_{max} = 220 - \text{leta} \qquad (2).$$

Če frekvenca utripov znaša manj kot 60 utripov na minuto, imenujemo takšno motnjo srčnega ritma bradikardija. Če pa frekvenca utripov preseže 100 utripov na minuto, imenujemo takšno motnjo srčnega ritma tahikardija.

V obeh zgoraj omenjenih primerih motenj gre za motnje *frekvence* srčnega ritma. Poleg teh vrst motenj pa se kardiologi ukvarjajo z zelo široko paleto različnih motenj *vzorca* srčnega ritma. To pomeni, da lahko v EKG-grafu manjkajo posamezni značilni valovi, da so valovi iste vrste različnih oblik, lahko pa se pojavljajo dodatni valovi tam, kjer jih sicer ne pričakujemo, ali so intervali in razmiki med valovi ter intervali neenaki.

Vzroki srčne aritmije so različni. Lahko so posledica delovanja nekaterih zdravil, alkohola, nikotina, kave in stresa. Pogosto so posledica različnih bolezni srca, na primer arterijske hipertenzije, napake srčnih zaklopk, koronarne srčne bolezni, vnetja srčne mišice, srčne hipertrofije, prirojene srčne napake. Na srčni utrip vpliva tudi dejavnost žleze ščitnice. Čezmerno delovanje ščitnice povečuje srčni utrip, prenizko pa ga znižuje.

Predstavitev izvedbe

Cilji:

- s pomočjo IKT-opreme izdelati grafični prikaz električnega delovanja srca v določenem času,
- naučiti se prepoznati in razločevati oblike srčnih valov na EKG-grafu,
- povezati posamezen val EKG-grafa s srčno dejavnostjo,
- iz dobljenih podatkov (grafa) določiti frekvenco srčnega utripa,
- iz dobljenih podatkov izračunati minutni volumen srca,
- po navodilu poimenovati graf, označiti na njem vse zahtevane elemente in iz njega razbrati zahtevane vrednosti.

Napotki in priporočila pred začetkom dejavnosti

Opozorilo: Po mednarodnem dogovoru z zeleno barvo označimo elektrodo, ki je ozemljitvena, s črno barvo je označena negativna elektroda in z rdečo barvo je označena pozitivna elektroda. Iz neznanih vzrokov je v Vernierjevih (izvirnih) navodilih (in tudi na nalepki EKG-senzorja) napaka v označevanju elektrod, in sicer so v kompletu elektrode označene:

- zelena elektroda je negativna (–)
- rdeča elektroda je pozitivna (+)
- črna elektroda je zemlja (nič)

V navodilu za vajo se držimo označbe elektrod po mednarodnem dogovoru.

- Vernierjev senzor za merjenje EKG je zgolj didaktični pripomoček za lažje razumevanje delovanja srca in nikakor ni namenjen diagnostiki. Zato kakršni koli »nenavadni« grafi EKG ne pomenijo bolezni ali napake v delovanju srca.
- Ker merimo EKG najstnikov, lahko opažamo neobičajne oblike EKG-grafa, kar ni nenavadno za to starostno obdobje.
- **Zelo pomembno** je, da se poskusna oseba pred merjenjem EKG umiri, da se ne premika, govori, smeje ipd., ker sicer delovanje mišic moti zbiranje podatkov delovanja srčne mišice in dobimo v elektrokardiogramu artefakte, ki motijo njegovo odčitavanje. Pred nameščanjem obližev s kosmom vate, navlažene z razkužilom, obrišite kožo na mestu namestitve obliža, da odstranite odmrle celice in maščobo, kar zagotavlja dober stik obliža s kožo.
- Pomembno je, da po opravljenih vajah obliže shranimo v izvirni embalaži in dobro zapremo, sicer se izsušijo in niso več prevodni, torej uporabni. Po priporočilu izvajalca so obliži primerni za uporabo približno leto dni po tem, ko izvirno embalažo odpremo, hranimo pa jih na temnem in hladnem mestu.
- Meritve lahko opravimo tudi z Lab Questom, saj nam omogoča shranjevanje rezultatov. Sama obdelava grafov in preglednost pa je enostavnej-

ša, če meritve spremljamo neposredno na računalniškem zaslonu. Tudi označevanje grafov je za dijake lažje z računalnikom.

- Če imate možnost, je najbolje, da grafe dijakov natisnete kar neposredno po tem, ko so jih dijaki uredili in shranili, kot je zapisano v navodilih. Če imate na šoli premalo računalnikov, lahko dijaki grafe urejajo tudi ročno. Čas trajanja meritev je relativno kratek, več dela imajo dijaki z urejanjem grafov, odčitavanjem podatkov in shranjevanjem dokumenta, tako da je vajo mogoče izpeljati na ta način le, če imamo na šoli več računalnikov. Dvojica dijakov opravi meritve, drugi se v tem času pripravljajo na vajo in odgovarjajo na vprašanja. Po opravljeni meritvi senzor predajo naslednji dvojici, saj za urejanje in interpretacijo dobljenih rezultatov ne potrebujejo več senzorja. Opozorila bi učitelja in laboranta, da sta pozorna na to, da dvojice dijakov ne zadržujejo pripomočkov po nepotrebnem.
- Praviloma je na šolah le en EKG-senzor, v skupini pa tudi do 17 dijakov, zato je pomembno, da pridejo dijaki na vajo pripravljeni, da lahko začnejo delati takoj. Zato je smiselno dijake na to opozoriti in nameniti nekaj časa za razlago osnovnih navodil kakšno uro pred izvedbo vaje.
- Druga možnost je, da vajo kombiniramo še s kakšnim drugim senzorjem, npr. za merjenje frekvence dihanja, perifernega tlaka, utrujanja mišic, spirometrom itd. Vse skupaj je stvar ciljev pouka, vaj in logistike izpeljave.
- Delovni list vključuje več meritev in več nalog. Učitelj lahko v posamezno izvedbo vključi le posamezno meritev, nalogo ali pa jih poljubno kombinira.
- V delovnem listu je vključenih 18 vprašanj za preverjanje, ki jih učitelj lahko vključi v vajo ali pa dijaki odgovarjajo nanje za domačo nalogo. Vprašanja od številke 1 do številke 6 so obvezna, saj se neposredno vežejo na meritve in naloge vaje.

Refleksija

Refleksija učitelja

Z izvedbo vaje sem zadovoljna. Čeprav imamo le en EKG-senzor na šoli, je vajo mogoče izpeljati s skupino dijakov. Seveda teče delo veliko lažje in tekoče s skupino četrtošolcev, v okviru priprave na maturo, kot z dijaki tretjih letnikov. Menim, da je to posledica motiviranosti posameznih dijakov. Vajo lahko prilagajamo (skrajšamo ali razširimo) glede na cilje, ki jih želimo doseči. Merjenje EKG v mirovanju (prva naloga v gradivu) je dovolj, da s praktično vajo utrdimo in nadgradimo teoretično znanje iz sklopa Zgradba in delovanje organizmov.

Obenem pa vaja omogoča doseganje tudi drugih ciljev, predvsem procesnih (raziskovanja, z vsemi koraki znanstvene metode dela).

Refleksija učenca

Dijakom je bila vaja zanimiva predvsem zato, ker so raziskovali delovanje svojega srca. Navodila so dovolj jasna tako, da pri izvedbi niso imeli večjih težav. V

nekaterih primerih so dobili nepričakovane grafe, predvsem zaradi neupoštevanja navodil, da se mora poskusna oseba umiriti pred izvedbo meritev. Posledično so nekateri dijaki morali meritve ponoviti. Posamezniki so na začetku imeli nekaj težav s prepoznavanjem posameznih valov in označevanjem grafa.

Priporočena gradiva za učitelje in učence

1 *Greenwood T. et al. (2008). Biologija za gimnazije: delovni zvezek. Ljubljana: Modrijan.*

2 *Stušek P. et al. (2011). Zgradba in delovanje organizmov. Ljubljana: DZS.*

Literatura in viri

1 *Barovič, V. (2004). Patologija, patološka fiziologija in osnove interne medicine. Ljubljana: DZS.*

2 *Campbell, N. A., Reece, J. B., Urry, L. A., Cain, M. L., Wasserman, S. A., Minorsky, P. V., Jackson, R. B. (2008). Biology – 8th ed. San Francisco: Pearson International Edition.*

3 *Košnik M. et al. (2011). Interna medicina, 4. izdaja. Ljubljana: Littera picta, Slovensko medicinsko društvo.*

Elektronski viri

1 *Bresjanac, M., Rupnik, M. (2011). Temelji fiziologije. Maribor: medicinska fakulteta, Univerza v Mariboru. Dostopno na: http://www.mf.uni-mb.si/mf/instituti/fizio/biologija/Temelji_fiziologije.pdf (29. 10. 2012).*

2 *Jenkins, D., Gerred, S. (1997). ECGs by Example. ECG Library. London, UK: Churchill Livingstone. ISBN 0 443 056978. Dostopno na: http://www.ecglibrary.com/ecghome.html? (29. 10. 2012).*

3 *Štajer, D. (2010). Zbirka posnetkov najpogostejših motenj srčnega ritma. Center za razvoj poučevanja: zbirka medicinskih multimedijskih knjižnic. Dostopno na: http://ibmi3.mf.uni-lj.si/mmd/cardio-a/index-slo.html (20. 6. 2012).*

4 *Nobelova nagrada za medicino. Wikipedia. Dostopno na: http://en.wikipedia.org/wiki/Nobel_Prize_in_Medicine (23. 5. 2012).*

5 *Nobelova nagrajenca za medicino leta 2012. Nobelova nagrada. Dostopno na: http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/2012/ (23. 5. 2012).*

6 *Slikovno gradivo – Biofizika (2007). Dostopno na: http://lizika.pfmb.uni-mb.si/biofizika/files/Slik_gradivo-biofizika1a.pdf (27. 2. 2012).*

7 *Teaching Science with technology. Vernier. Dostopno na: http://www.vernier.com/ (27.2. 2012).*

8 *Analyzing the Heart with EKG. Vernier. Dostopno na: http://www.vernier.com/experiments/hp-a/12/analyzing_the_heart_with_ekg/ (27. 2. 2012).*

9 *Jan Evangelista Purkinje. Encyclopedia Britannica. Dostopno na: http://www.britannica.com/EBchecked/topic/484087/Jan-Evangelista-Purkinje (26.6.2012).*

10 *Wilhelm His. Encyclopedia Britannica. Dostopno na: http://www.britannica.com/search?query=Wilhelm+His (26.6.2012).*

11 *Electrocardiography. Wikipedia. Dostopno na: http://en.wikipedia.org/wiki/Electrocardiography (3. 11. 2012).*

Viri slik

Slika 1: *Fotografija enega prvih elektrokardiografov. Wikipedia. Willem Eindhoven. Dostopno na: http://en.wikipedia.org/wiki/Willem_Einthoven (23. 5. 2012).*

Slika 2: *Glavni elementi krvnih obtočil. Bresjanac M., Rupnik M. (2011). Temelji fiziologije. Maribor: medicinska fakulteta, Univerza v Mariboru. Dostopno na: http://www.mf.uni-mb.si/mf/instituti/fizio/biologija/Temelji_fiziologije.pdf (25. 10. 2012).*

Slika 3: *Štiri faze akcijskega potenciala v celici prekata srca in prehod posameznih ionov v celico in iz nje med akcijskim potencialom. Bevc, S. et al. (2011). Simulacija motenj srčnega ritma. Maribor: SIM Center, Medicinska fakulteta, Univerza v Mariboru. Dostopno na: http://ibmi3.mf.uni-lj.si/mmd/cardio-a/index-slo.html Zbirka medicinskih multimedijskih knjižnic (19.11.1012).*

Slika 4: *Nadzor srčnega ritma. Vir: Campbell, N. A., Reece, J. B., Urry, L. A., Cain, M. L., Wasserman, S. A., Minorsky, P. V., Jackson, R B. (2008). Biology – 8th ed. San Francisco: Pearson International Edition, str. 905.*

Slika 5: *Srčni cikel. Vir: Campbell, N. A., Reece, J. B., Urry, L. A., Cain, M. L., Wasserman, S. A., Minorsky, P. V., Jackson, R. B. (2008). Biology – 8th ed. San Francisco: Pearson International Edition, str. 904.*

Slika 6: *Elektrokardiogram. Vir: Analyzing the Heart with EKG. Vernier. Dostopno na: http://www.vernier.com/files/sample_labs/HP-A-12-COMP-analyzing_heart_ekg.pdf (10. 3. 2012).*

Slika 7: *Položaj elektrod med snemanjem standardnega EKG. Vir: Barovič, V. (2004). Patologija, patološka fiziologija in osnove interne medicine: učbenik za srednjo zdravstveno šolo – 1. izdaja, 3. natis. Ljubljana: DZS, str. 112.*

Slika 8: *Položaj elektrod na poskusni osebi. Vir: Analyzing the Heart with EKG. Vernier. Dostopno na: http://www.vernier.com/files/sample_labs/HP-A-12-COMP-analyzing_heart_ekg.pdf (10. 3. 2012).*

Slika 9: *Graf EKG in značilni vrhovi. Vir: Analyzing the Heart with EKG. Vernier. Dostopno na: http://www.vernier.com/files/sample_labs/HP-A-12-COMP-analyzing_heart_ekg.pdf (10. 3. 2012).*

Delovni list za dijake

Analiza delovanja srca s pomočjo EKG-senzorja (Vernier)

V tej vaji boste opravili tri meritve po 5 sekund s pomočjo EKG-senzorja:

- V prvi nalogi boste opravili merjenje delovanja vašega srca v mirovanju.
- V drugi nalogi boste nalogo ponovili tako, da boste zamenjali lego rdeče in črne elektrode.
- V tretji nalogi pa boste opravili meritev tako, da boste odklopili rdečo in črno elektrodo.

Vsaka dvojica najprej opravi vse tri meritve in rezultate (grafe) shrani na namizje. Takoj po opravljenih meritvah dvojica odda EKG-senzor naslednjemu paru in dela druge naloge po navodilu (ureditev, poimenovanje grafov, merjenje zahtevanih vrednosti, odgovori na vprašanja ...).

Dijaki, ki čakajo na EKG-senzor, se medtem pripravijo na izvedbo vaje (na računalniku poiščejo ustrezno datoteko in predlogo, nastavijo čas zajemanja podatkov) ter preberejo in rešujejo tista vprašanja na koncu naloge, za katera niso potrebni rezultati meritev, in si pri tem pomagajo z različnimi viri.

Pripomočki:

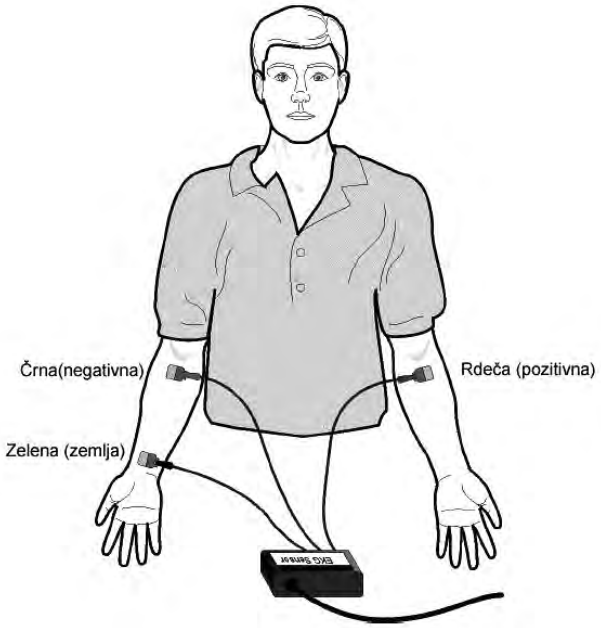
- računalnik in Lab Pro ali Lab Quest
- Vernierjev vmesnik ali Lab Quest
- Logger Pro
- EKG-senzor
- obliži za elektrode
- razkužilo in vata

Postopek:

Opozorilo: Pomembno je, da se testirana oseba umiri in sprosti. Mišice naj bodo sproščene, dihanje normalno, enakomerno.

1. naloga: Snemanje EKG

1. Povežite EKG-senzor z Lab Questom (uporabite lahko tudi Lab Pro) in računalnikom s programom *Logger Pro*. Na računalniškem zaslonu odprite datoteko *12 Analyzing the Heart with EKG*, ki jo najdete v mapi *Human Phsyology with Vernier*. Čas merjenja nastavite na 5 sekund.
2. Poskusna oseba naj sede na stol, roke (podlakti) naj počivajo na nogah. Pred namestitvijo elektrod kožo poskusne osebe na mestih, kamor boste prilepili obliže, očistite z razkužilom oz. s kremo NuPrep, če jo imate na voljo. Ostanke kreme odstranite s papirnato brisačo in na ta mesta prilepite elektrodne obliže tako, da bo jeziček obliža gledal navzdol. Glej sliko 1.



Slika 1: Položaj elektrod na poskusni osebi
(Vir: *http://www.vernier.com/files/sample_labs/HP-A-12-COMP-analyzing_heart_ekg.pdf*)

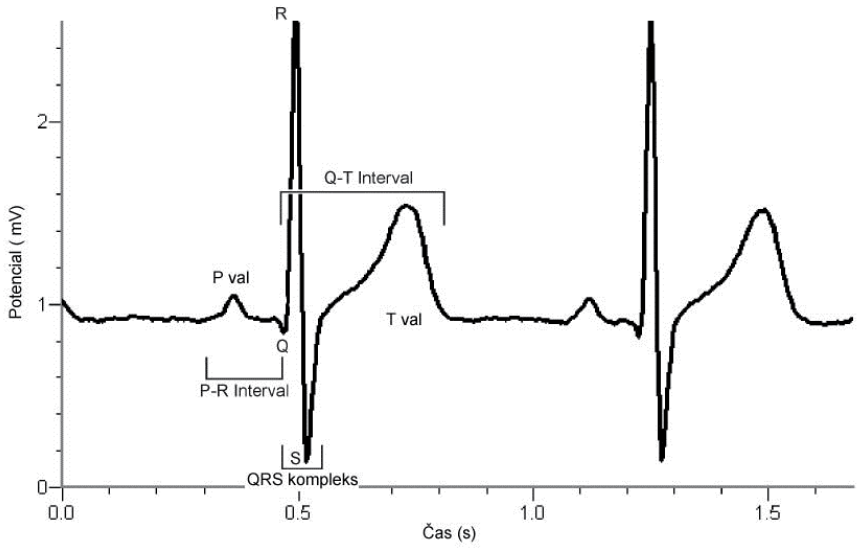
Elektrode s sponkami (krokodilčki) pripnite na obliže, kot prikazuje slika 1. Prvi obliž (zelena barva – ozemljitev) namestite na notranjo stran zapestja desne roke, drugega (črna barva – negativna elektroda) na notranjo stran zapestja komolca desne roke in tretjega (rdeča barva, pozitivna elektroda) na notranjo stran komolca leve roke. Ko je oseba umirjena, sprožite program zbiranja podatkov s klikom na ikono »*Collect*«. V orodni vrstici »*Experiment menu*« izberite opcijo »*Store Lastest Run*« in shranite rezultate, graf, na namizje (pazite na **ustrezno** poimenovanje datoteke).

3. Ponovite meritev tako, da zamenjate lego črne in rdeče elektrode. Tudi ta graf shranite na namizje.
4. Opravite še tretjo meritev tako, da odklopite črno in rdečo elektrodo. Rezultat shranite enako kot v prejšnjih dveh primerih.
5. Ko opravite vse tri meritve, oddajte EKG-senzor naslednji dvojici dijakov. Sami pa začnite odčitavati zahtevane podatke in urejati grafe.

2. naloga: Urejanje grafov in razlaga dobljenih rezultatov

1. Po končanih meritvah najprej uredite vsakega od treh grafov tako, da ga ustrezno poimenujete. To storite tako, da se z miško postavite na naslov grafa in z dvoklikom se vam odpre okno, v katerem lahko spremenite besedilo, velikost črk ipd.
2. Na namizju odprite Wordov dokument, v katerega boste shranili svoje grafe. Drugo in tretjo meritev (graf) shranite v ta dokument s pomočjo tipke Print screen in copy/paste (ctrl C/ctrl V), takoj ko uredite naslove. Grafe bomo na koncu natisnili in bodo priloga poročilu.
3. Primerjajte obliko grafa druge in tretje meritve z obliko grafa prve meritve. Zapišite kratek komentar k vsakemu od grafov.

4. Graf prve meritve (EKG v mirovanju) bo treba podrobneje označiti. Upoštevajte navodila v nadaljevanju.
5. Za pravilno določitev posameznih valov in intervalov vam je v pomoč slika 2. Dobljeni graf označite tako, da v orodni vrstici, v zavihku *Insert* izberete možnost *Text annotation*, v katero zapišete ustrezno črko, s katero boste poimenovali posamezen val v vašem EKG-grafu. Okvirček s črko lahko premikate v predlogi grafa, takrat ko se vam na zaslonu puščica miške spremeni v roko. Z zadržanim klikom leve tipke miške lahko okvirček poljubno premikate na ustrezno mesto. Prav tako premikate tudi kazalo (črto, ki je povezana z okvirčkom). Ko ste uspešno označili vse valove, raziščite čas trajanja posameznih intervalov, ki so zapisani v Preglednici 1.
6. Kliknite desni gumb na miški in povlecite na grafu posamezen interval, ki je naveden v Preglednici 1. Vnesite Δx vrednost vsakega posameznega intervala na 0,01 sekund natančno v Preglednico 1. To vrednost najdete v levem spodnjem kotu ekrana. V srednji stolpec preglednice zapišite, kaj se v posameznem intervalu dogaja s srčno mišico.
7. Iz grafa izračunajte število srčnih utripov na minuto in rezultat vpišite v Preglednico 2 in na graf. V graf to vrednost vpišete tako, da uporabite možnost *Insert text*.
8. Na grafu prve meritve z različnimi barvami označite tiste dele grafa EKG, ki prikazujejo depolarizacijo atrijev in depolarizacijo ventriklov ter repolarizacijo ventriklov. Ta del naloge lahko opravite tudi pozneje, ko boste dobili natisnjene grafe.
9. Urejeni graf shranite v Wordov dokument, tako kot ste shranili prejšnja dva grafa.



Slika 2: Graf EKG in značilni vrhovi

Legenda:	
P-R-interval:	čas od začetka P-vala do začetka QRS-kompleksa
QRS-kompleks:	čas od Q upogiba do S upogiba
T-val:	čas od začetka do konca T-vala
Q-T-interval:	čas od Q upogiba do konca T-vala
T-P-interval:	čas od konca T-vala do začetka P-vala
R-R-interval:	čas od vrha enega do vrha naslednjega R-vala

Rezultati:

Preglednica 1		
interval	**dogajanje v srcu**	**čas (s)**
P-R		
QRS		
T		
Q-T		
T-P		
R-R		

Preglednica 2	
Utripni volumen UV (ml)	70
Frekvenca srčnega utripa FSU (min^{-1})	
Minutni volumen srca MVS (ml)	

Preglednica 3	
Standardne vrednosti EKG posameznih intervalov	
interval	**čas (s)**
P-R	0,12–0,20
QRS	manj kot 0,12
Q-T	0,30–0,40

Vprašanja in naloge

1. Utripni volumen srca je količina krvi, ki jo srce iztisne ob enem utripu in v povprečju znaša 70 ml krvi. Minutni volumen srca pa nam pove, koliko krvi prečrpa srce poskusne osebe v eni minuti v mirovanju. Iz podatkov, ki ste jih zbrali, izračunajte minutni volumen srca.
2. Od česa je odvisen minutni volumen srca pri isti osebi in kaj bi bil lahko vzrok za različne minutne volumne srca pri različnih osebah?
3. Iz grafa razberite, v katerem intervalu srce »počiva«: odčitajte čas, v katerem srčna mišica miruje.
4. Zakaj ima graf druge meritve drugačno obliko od grafa vaše prve meritve?
5. Kaj lahko sklepamo iz oblike grafa, ki smo jo posneli s tretjo meritvijo?
6. Narišite preprosto (shematsko) sliko srca, ki vključuje vse štiri srčne votline, srčne zaklopke, sinoatrialni in atrioventrikularni ritmovnik ter prevodna vlakna (Hisov snop in Purkynjejeva vlakna). S puščicami označite tok krvi skozi srce. Na sliki vse

omenjene strukture označite in poimenujte. Bodite pozorni, da bo slika dovolj velika, nazorna.

7. Načrtujte eksperiment, s katerim bi ugotovili, kateri dejavniki vplivajo na delovanje srčne mišice.
8. V literaturi poiščite pomen pojma srčna aritmija.
9. S pomočjo različnih virov raziščite, kolikšna je frekvenca bitja srca pri manjših organizmih (npr. pri miši, hrčku, mački ...) in kolikšna pri večjih organizmih (npr. pri slonu, sinjem kitu, žirafi ...)? Razmislite, kaj je lahko vzrok za te razlike?
10. Kaj je refraktarna doba? Kakšen je pomen refraktarne dobe?
11. Zakaj se uporablja EKG? Opišite princip delovanja elektrokardiografije. Ali bi lahko zaznali morebitno aritmijo srca? Kako?
12. Na kratko pojasnite, kako se impulz širi po srčni mišici (pot impulza).
13. Kakšno vlogo igra pri prevajanju srčnega impulza Hisov snop?
14. Kaj pomeni depolarizacija in kaj repolarizacija? Kakšen je njun pomen pri delovanju srca?
15. Kaj je sistola in kaj diastola? Koliko časa trajajo posamezni intervali?
16. Zakaj morajo biti žile elastične?
17. V elektrokardiografiji srce predstavlja izvor (obkrožite pravilni odgovor):

    a) elektromagnetnega valovanja,

    b) magnetnega polja,

    c) električnega polja.
18. Pri tem si srce predstavljamo kot (obkrožite pravilni odgovor):

    a) električni naboj,

    b) električni dipol,

    c) magnetni dipol.

Dodatna naloga (opcija individualno delo dijakov ali priprava na maturo)

Ko zdravniki interpretirajo EKG-graf, si postavijo naslednja vprašanja:

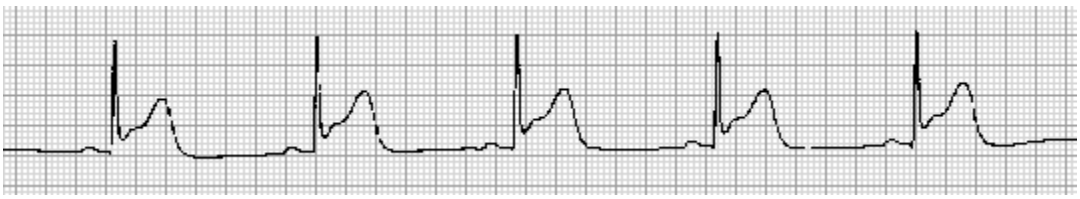
Ali je mogoče identificirati v vsakem utripu vse komponente, značilne za EKG?

Ali so intervali med posameznimi komponentami in posameznimi kompleksi enaki?

Ali so vidna jasna odstopanja od normale v kateri koli od komponent posameznih valovih EKG-ja?

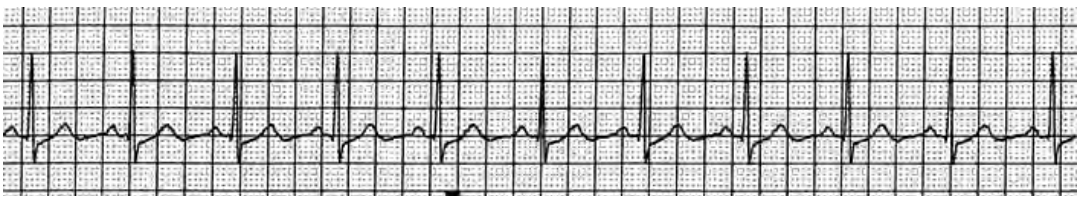
Z znanjem, ki ste ga pridobili o delovanju srca in oblikah normalnih EKG-jev, analizirajte primere A, B in C na sliki na naslednji strani. Kateri izmed treh grafov prikazuje normalen EKG in za kakšne motnje v delovanju srca gre v preostalih dveh primerih? Zapišite tudi, kako ste to ugotovili.

Primer A



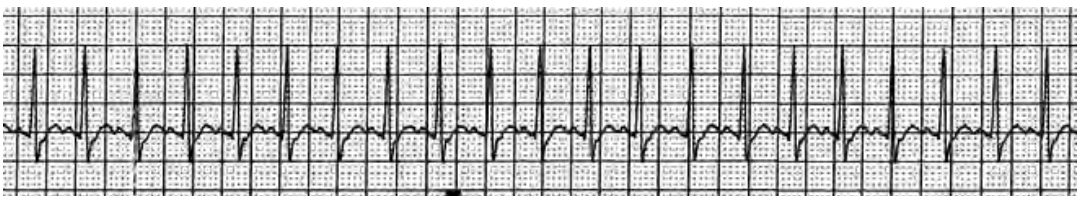
Odgovor:

Primer B



Odgovor:

Primer C

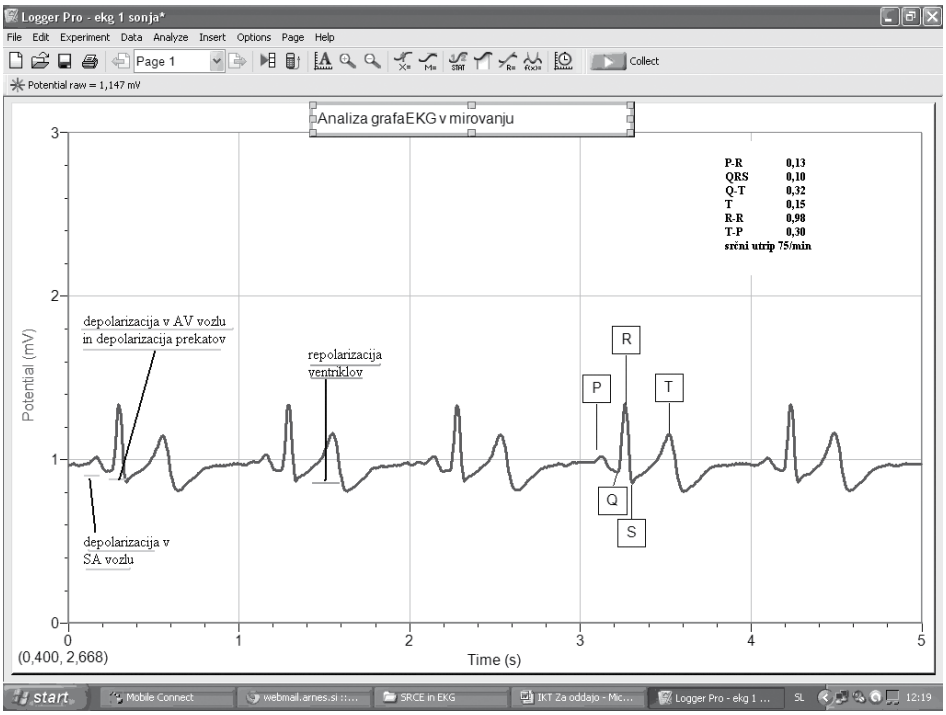


Odgovor:

Rezultati dejavnosti in odgovori na vprašanja

Analiza delovanja srca s pomočjo EKG-senzorja (Vernier)

1. Snemanje EKG v mirovanju



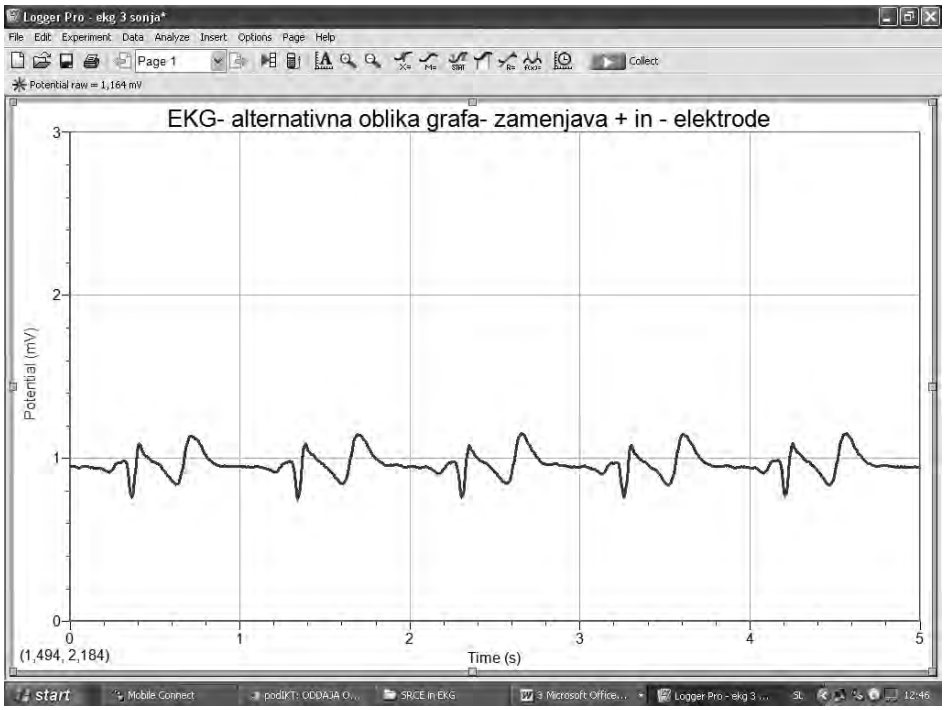
Komentar: Graf ima normalno obliko: vidni so vsi značilni valovi (P, Q, R, S in T), razmak med valovi je enakomeren. Istovrstni valovi so med seboj enaki po obliki in oddaljenosti.

Tabela 1		
interval	**dogajanje v srcu**	**čas (s)**
P-R	depolarizacija atrijev	0,13
QRS	nastop depolarizacije prekatov	0,10
Q-T	depolarizacija prekatov	0,32
T	repolarizacija prekatov	0,15
R-R	trajanje enega utripa srca	0,98
T-P	čas počitka srca	0,30

Tabela 2	
Utripni volumen UV (ml)	70
Frekvenca srčnega utripa FSU (min^{-1})	75
Minutni volumen srca MVS (ml)	5250

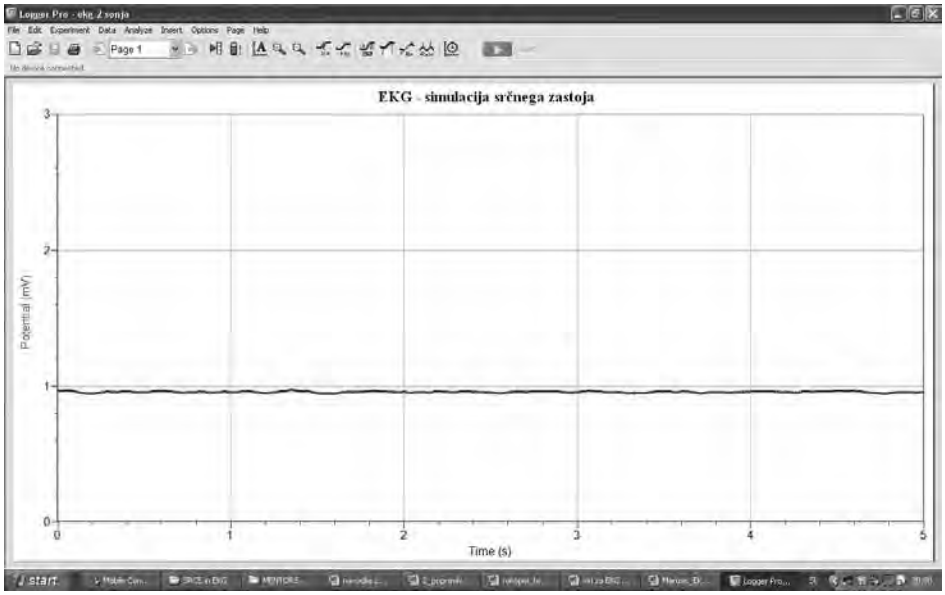
MVS = FSU x UV 75 x 70 ml = 5250 ml
Srce testiranca prečrpa 5,25 l krvi na minuto.

2. Alternativne oblike grafa EKG (zamenjava + in - elektrode)



Komentar: Grafi so obrnjeni, ker sta elektrodi zamenjani.

3. Simulacija srčnega zastoja



Komentar: Po obliki grafa lahko sklepamo na nedelovanje srčne mišice, kar smo dosegli s tem, da smo odklopili + in – elektrodo.

Odgovori na vprašanja:

1. Utripni volumen srca je količina krvi, ki jo srce iztisne ob enem utripu in v povprečju znaša 70 ml krvi. Minutni volumen srca pa nam pove, koliko krvi prečrpa srce poskusne osebe v eni minuti v mirovanju. Iz podatkov, ki ste jih zbrali, izračunajte minutni volumen srca.

   Normalno znaša okrog 5 l/min. Dijaki izračunajo minutni volumen svojega srca tako, da pomnožijo vrednost frekvence srčnega utripa min^{-1}, ki so jo določili iz svojega grafa EKG, z vrednostjo utripnega volumna srca (70 ml).

2. Od česa je odvisen minutni volumen srca pri isti osebi in kaj bi bil lahko vzrok za različne minutne volumne srca pri različnih osebah?

   Minutni volumen srca (MVS) pri posamezniku je odvisen od frekvence srčnega utripa in velikosti prekatov. Vzroki za povečan MVS na račun povišane frekvence so telesna dejavnost, stres (razburjenje, strah, veselje), povečana dejavnost simpatičnega živčevja, okužbe, visok krvni tlak in spojine, ki učinkujejo na srčno-žilni sistem (kofein, tein, nikotin). Na zmanjšan MVS pa vpliva povečan vpliv parasimpatika, kardiopatija (bolezni srca) in srčno popuščanje.

   Frekvenca srčnega utripa lahko variira med 60 in 180 udarci na minuto, medtem ko utripni volumen variira med 70 in 120 ml krvi.

   Faktor povečanja frekvence utripov znaša do 3-krat, medtem ko se minutni volumen poveča le za faktor 1,7. Iz tega lahko sklepamo, da ima pri uravnavanju pretoka krvi skozi organizem pomembnejšo vlogo spreminjanje frekvence utripa. Minutni volumni srca pri različnih osebah so odvisni od velikosti njihovega srca. Frekvenca srčnega utripa je odvisna od spola, starosti, telesne pripravljenosti posameznika, vpliva hormonov in avtonomnega živčevja.

3. Iz grafa razberite, v katerih intervalih srce miruje, in odčitajte čas, ki je namenjen počitku srčne mišice.

   Srce miruje v intervalu med T- in P-valom, kar traja približno 0,10 s.

4. Zakaj ima graf druge meritve drugačno obliko od grafa vaše prve meritve?

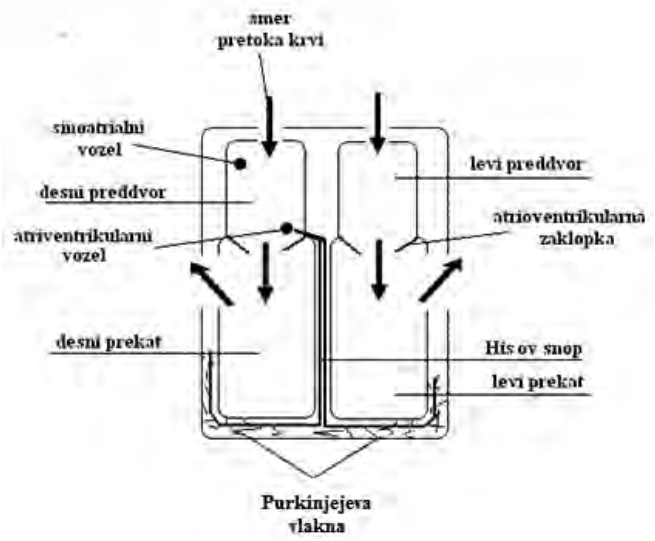
   Vzrok za drugačno obliko grafa je drugačna postavitev elektrod, ki prestrezajo električno delovanje srčne mišice.

5. Kaj lahko sklepamo iz oblike grafa, ki smo jo posneli s tretjo meritvijo?

   Če bi meritev izvedli s pravilno nameščenimi elektrodami in z delujočim elektrokardiografom, bi sklepali, da je srčna mišica nedejavna.

6. Narišite preprosto (shematsko) sliko srca, ki vključuje vse štiri srčne votline, srčne zaklopke, sinoatrialni in atriventrikularni ritmovnik ter prevodna vlakna (Hisov snop in Purkynjejeva vlakna). S puščicami označite tok krvi skozi srce.

   Na sliki vse omenjene strukture označite in poimenujte. Bodite pozorni, da bo slika dovolj velika, nazorna.



Slika 2: Preprosta shema srčnih komor, toka krvi in ritmovniških elementov.

7. Načrtujte eksperiment, s katerim bi ugotovili, kateri dejavniki vplivajo na delovanje srčne mišice.

Dijaki lahko preučujejo delovanje srca v različnih položajih telesa, po večji ali manjši telesni dejavnosti, raziskujejo vpliv energetskih napitkov (kokakola, kava, čaj ipd.), raziskujejo obliko EKG-grafa ob globokem vdihu ali zadržanem dihu.

8. V literaturi poiščite pomen pojma srčna aritmija?

Srčna aritmija pomeni motnjo srčnega ritma, ki se lahko kaže kot:

*1. motnja **frekvence** srčnega ritma (srce bije prehitro – tahikardija ali bije prepočasi – bradikardija)*

*2. motnja **vzorca** srčnega ritma (kar pomeni, da lahko v značilni obliki EKG-grafa manjka posamezen val, ali da so valovi iste vrste različnih oblik, lahko pa se pojavljajo dodatni valovi tam, kjer jih sicer ne pričakujemo, ali da so intervali in razmiki med valovi ter intervali neenaki).*

9. S pomočjo različnih virov raziščite, kolikšna je frekvenca bitja srca pri manjših organizmih (npr. pri miši, hrčku, mački ...) in kolikšna pri večjih organizmih (npr. pri slonu, sinjem kitu, žirafi ...)? Razmislite, kaj je lahko vzrok za te razlike?

Praviloma imajo živali, ki so manjše, višje frekvence srčnega utripa od velikih organizmov. Vzrok za to je ugodno/neugodno razmerje med telesno površino in prostornino. Pri manjših organizmih je telesna površina večja, kar pomeni tudi večje izgube energije. To pa nadomestijo z višjo frekvenco srčnih utripov.

Frekvence:

miš 500 min^{-1}, hrček 450 min^{-1}, netopir 300–400 min^{-1}, odvisno od vrste/ hibernacija pod 10 min^{-1}, podlasica 240 min^{-1}, mačka 140–220 min^{-1}, pes 50-130 v mirovanju min^{-1}

kenguru 125 min^{-1}

tiger 64 min^{-1}, lev 40 min^{-1},

krava 70-100 min^{-1}, konj, odrasel 30–40 min^{-1}, žrebiček 70-120 min^{-1}

žirafa 66 min^{-1}

slon 28 min^{-1}
delfin 150 min^{-1}
delfin na površini (pod vodno gladino) 110 min^{-1}, pri potapljanju 50 min^{-1}
brazdasti kit 25 min^{-1}, pri potopu pa 8 min^{-1}

10. Kaj je refraktarna doba? Kakšen je pomen refraktarne dobe?

Refraktarna doba je čas, ko je srčna mišica neodzivna na dražljaje. Omogoča koordinirano širjenje vzburjenja po različnih delih srca, brez tveganja, da bi val depolarizacije neurejeno krožil po srčni mišici in sprožil fibrilacijo.

11. Zakaj se uporablja EKG? Opišite princip delovanja elektrokardiografije. Ali bi lahko zaznali morebitno aritmijo srca? Kako?

Elektrokardiograf je naprava, s pomočjo katere lahko posnamemo spremembe v električni dejavnosti srca. S pomočjo elektrod, ki jih pritrdimo na površino/kožo, prestrežemo napetostne razlike v posameznih delih srca, ki so posledica električnih sprememb v srčni mišici (prevajanje akcijske potenciala).

EKG je pripomoček v diagnostiki, s katerim ugotavljamo pravilno delovanje srca. Iz oblike grafa, zaporedja in oblike valov lahko sklepamo na nepravilno delovanje srca in aritmije.

12. Na kratko pojasnite, kako se impulz širi po srčni mišici (pot impulza)?

*Vzburjenje, ki ga inducirajo celice ritmovnika, se zaradi tesnih celičnih stikov in prevajalnih vlaken hitro prenese po celotnem srcu. Vzburjenje se za*čne *v celicah sinoatrialnega ritmovnika in se prek tesnih celičnih stikov hitro prevede po celotnem preddvoru. Od atrioventrikularnega vozla pa se impulz prevaja po prevodnih vlaknih Hisovega snopa v spodnji del prekatov, od tu pa se preko Purkynjejevih vlaken in srčnih mišičnih celic od spodnjega dela srca navzgor do vrha prekatov.*

13. Kakšno vlogo igra pri prevajanju srčnega impulza Hisov snop?

Hisov snop prevaja vzburjenje iz atrioventrikularnega vozla do dna (apexa) srca, od tu pa se informacija prenese preko Purkynjejevih vlaken v steno obeh prekatov. Zaradi Hisovega snopa se vzburjenje v ventriklih začenja od dna srca navzgor, kar je pomembno predvsem zato, da se s tem doseže zapiranje atrioventrikularnih zaklopk in pravočasno odpiranje zaklopk, ki omogočajo iztok krvi iz prekatov v žile (aorto in pljučno deblo). Vzburjenje, ki ga inducirajo celice ritmovnika, se zaradi tesnih celičnih stikov in prevajalnih vlaken hitro prenese po celotnem srcu. Vzburjenje se začne v celicah sinoatrialnega ritmovnika in se prek tesnih celičnih stikov hitro prevede po celotnem preddvoru. Od atrioventrikularnega vozla pa se impulz prevaja po prevodnih vlaknih Hisovega snopa v spodnji del prekatov, od tu pa se po Purkynjejevih vlaknih in srčnih mišičnih celicah od spodnjega dela srca navzgor do vrha prekatov.

14. Kaj pomeni depolarizacija in kaj repolarizacija. Kakšen je njun pomen pri delovanju srca?

Depolarizacija pomeni vzburjenje srčne mišične celice, gre za spremembo napetosti na membrani te celice zaradi vdora Ca^{2+} in Na^{+} ionov. Vdor Ca^{2+} ionov povzroči podaljšano depolarizacijo in omogoči krčenje mišičnih celic. Repolarizacija pomeni ponovno vzpostavitev mirovnega membranskega potenciala, zgodi se predvsem na račun povečane prepustnosti membrane za K^{+} ione proti koncu depolarizacije. Repolarizacija omogoča sprostitev (relaksacijo) mišične celice.

15. Kaj je sistola in kaj diastola? Koliko časa trajajo posamezni intervali?

Sistola pomeni krčenje srčne mišice, diastola pa sprostitev. Načeloma s pojmom sistola razumemo krčenje srca in iztiskanje krvi v aorto in pljučno deblo, z izrazom diastola pa sprostitev srčnih mišic in posledično in polnjenje srca s krvjo. Delovanje srca je ritmično in krčenje zgornjega dela srca (atrijev, preddvorov, poteka ločeno od krčenja spodnjega dela srca (prekatov/ventriklov). Najprej se zgodi sistola preddvorov, ki traja 0,1 s, nato sledi sistola ventriklov, ki traja 0,3 s, sočasno pa že poteka diastola atrijev. Diastola ventriklov v mirovanju traja 0,4 s.

16. Zakaj morajo biti žile elastične?

Ker so stene žil elastične, absorbirajo del tlačnega vala ob sistoli ventrikla. Med diastolo ventrikla se stene žil krčijo in potiskajo kri po arterijskem sistemu. Tako je tok krvi stabilnejši in manj sunkovit. Elastične žile tudi blažijo sile, ki zaradi tlačnih sprememb delujejo na notranje organe.

17. V elektrokardiografiji srce predstavlja izvor (obkrožite pravilni odgovor):

a) elektromagnetnega valovanja, b) magnetnega polja, c) električnega polja.

Pravilen odgovor je C.

18. Pri tem si srce predstavljamo kot (obkrožite pravilni odgovor):

a) električni naboj, b) električni dipol, c) magnetni dipol.

Pravilen odgovor je B.

Dodatna naloga (opcija individualno delo dijakov ali priprava na maturo)

Primer A

Odgovor: gre za bradikardijo, frekvenca srčnega utripa je 45 utripov min^{-1}.

Primer B

Odgovor: gre za normalen srčni utrip, frekvenca srčnega utripa je 78 utripov min^{-1}.

Primer C

Odgovor: gre za tahikardijo, frekvenca srčnega utripa je 176 utripov min^{-1}.

Primer individualno izvedene vaje, ki jo je dijakinja sama načrtovala

Vpliv kofeina na delovanje srca

Raziskovalno vprašanje: Kakšen je vpliv kofeina na delovanje srca?

Raziskala bom, kako skodelica kave (ekspreso) vpliva na frekvenco srčnih utripov. Glede na to, da je kava poživilo, pričakujem, da se bo frekvenca srčnih utripov po zaužitju kave povečala.

Hipoteza: Predvidevam, da se bo čas intervalov med valovi EKG skrajšal. To pomeni, da bo srce bilo hitreje oziroma da se bo frekvenca srčnega utripa povečala.

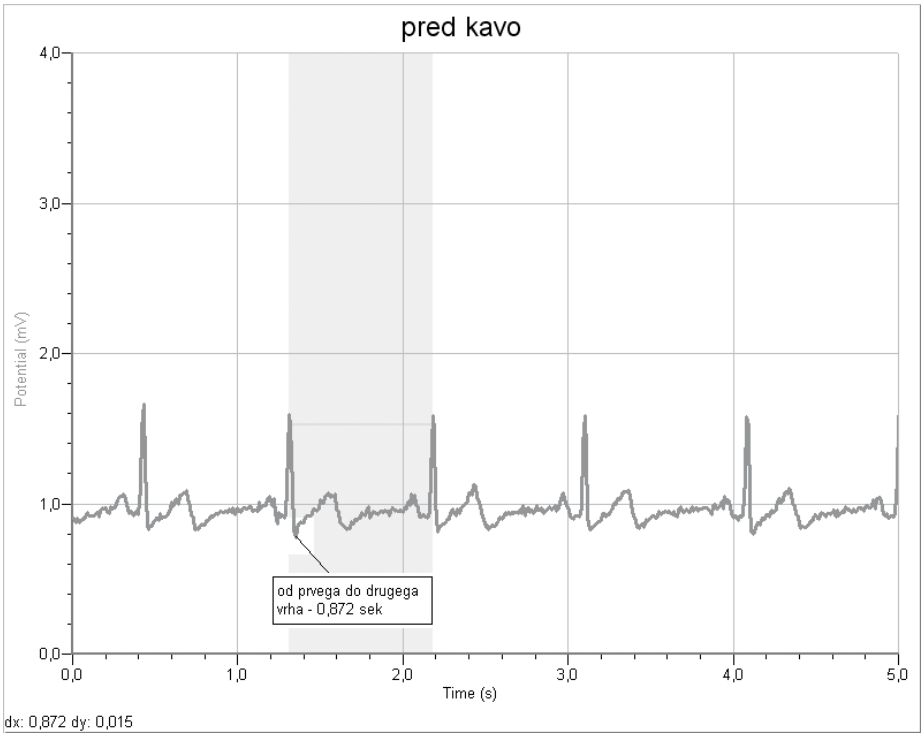
Povečanje frekvence srčnih utripov bom merila s časom trajanja enega srčnega utripa, torej s časom intervala med dvema R-vrhoma.

Opravila bom dve meritvi in izračunala povprečno vrednost obeh meritev.

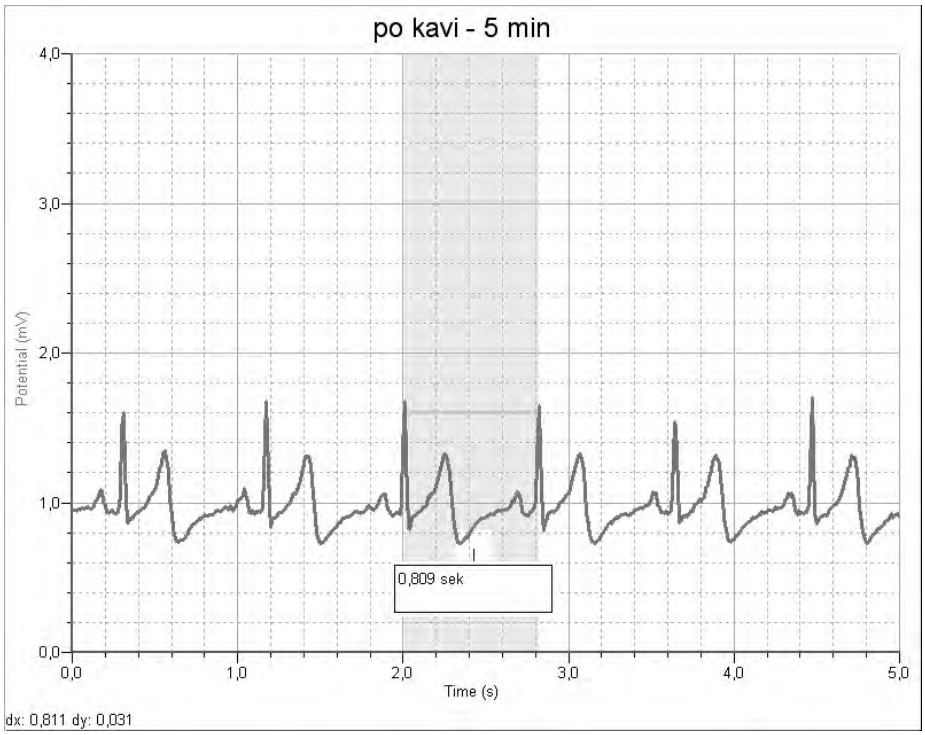
Postopek: Glej delovni list, naloga 1.

Rezultati:

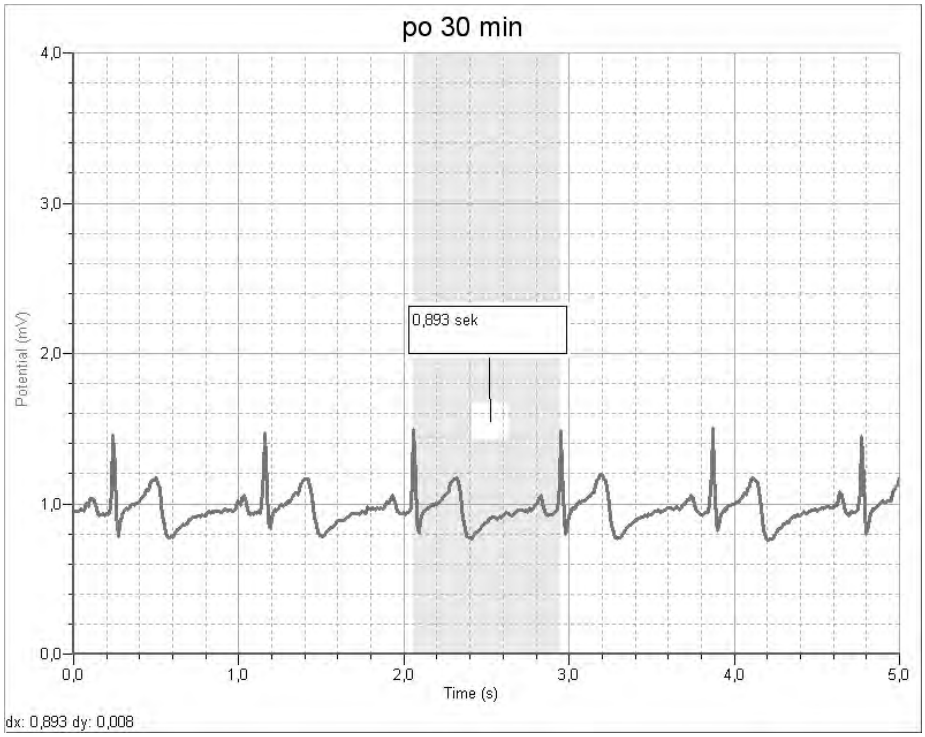
1. poskus: Pred zaužitjem kave



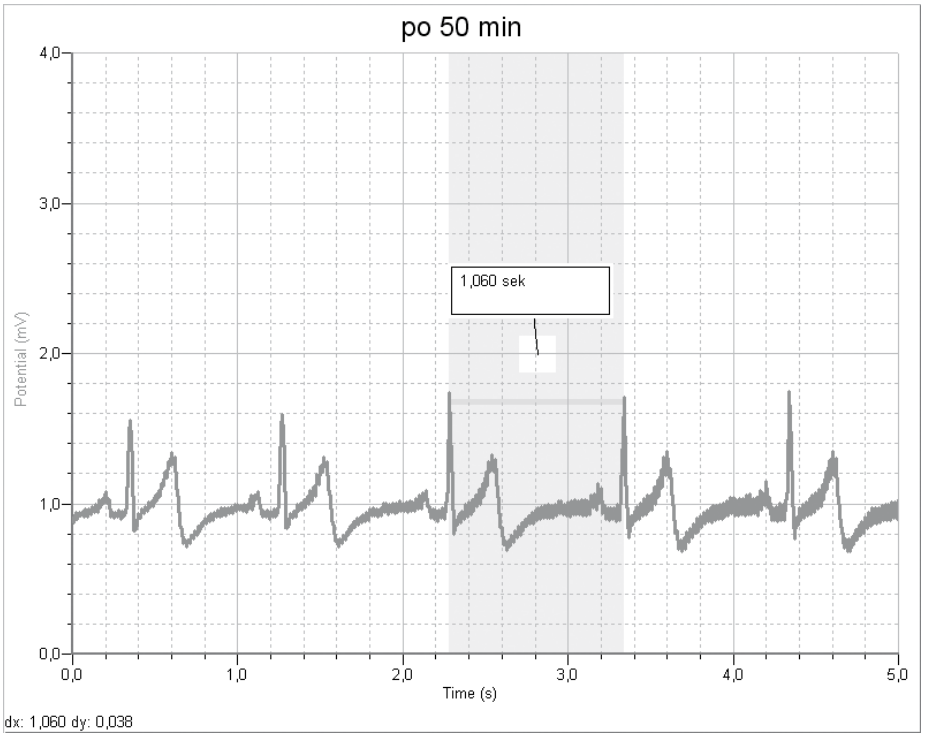
Po 5 minutah



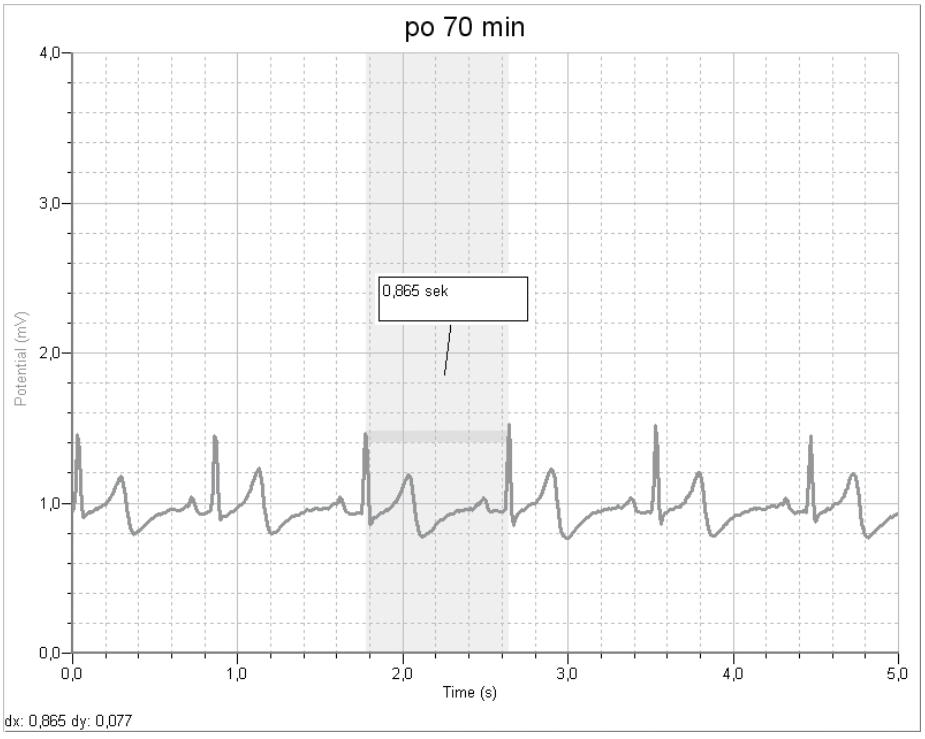
Po 30 minutah



Po 50 minutah

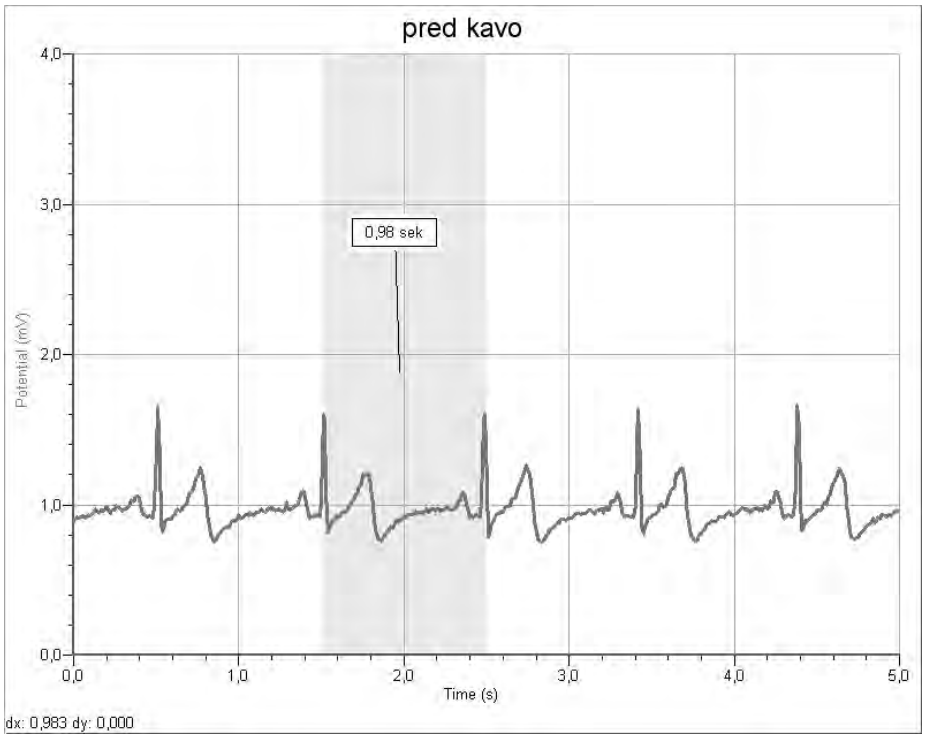


Po 70 minutah

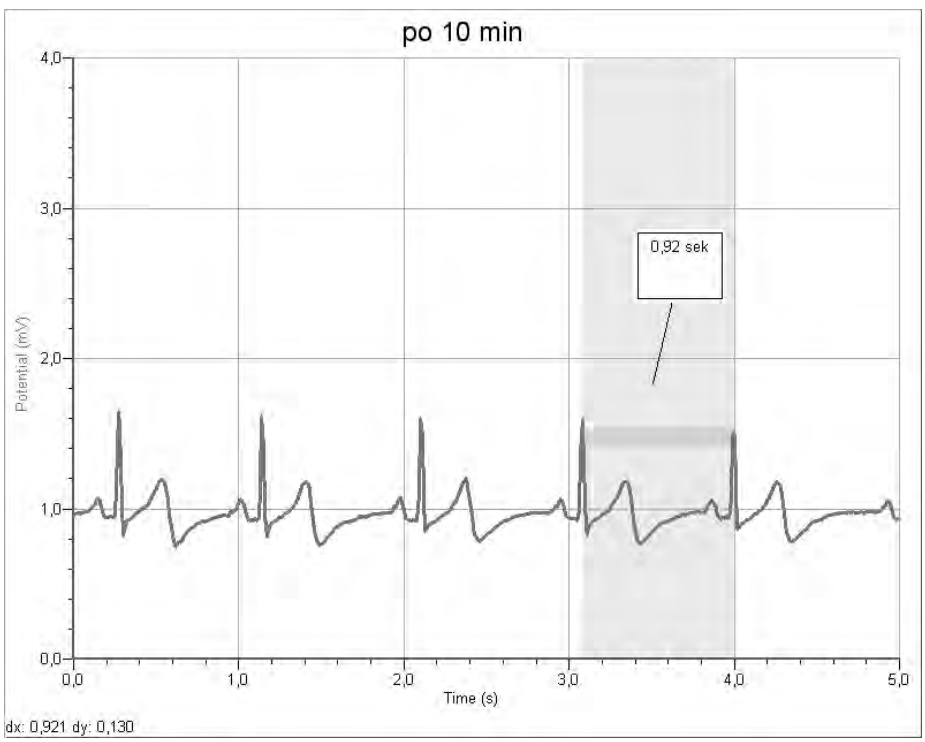


Drugi poskus:

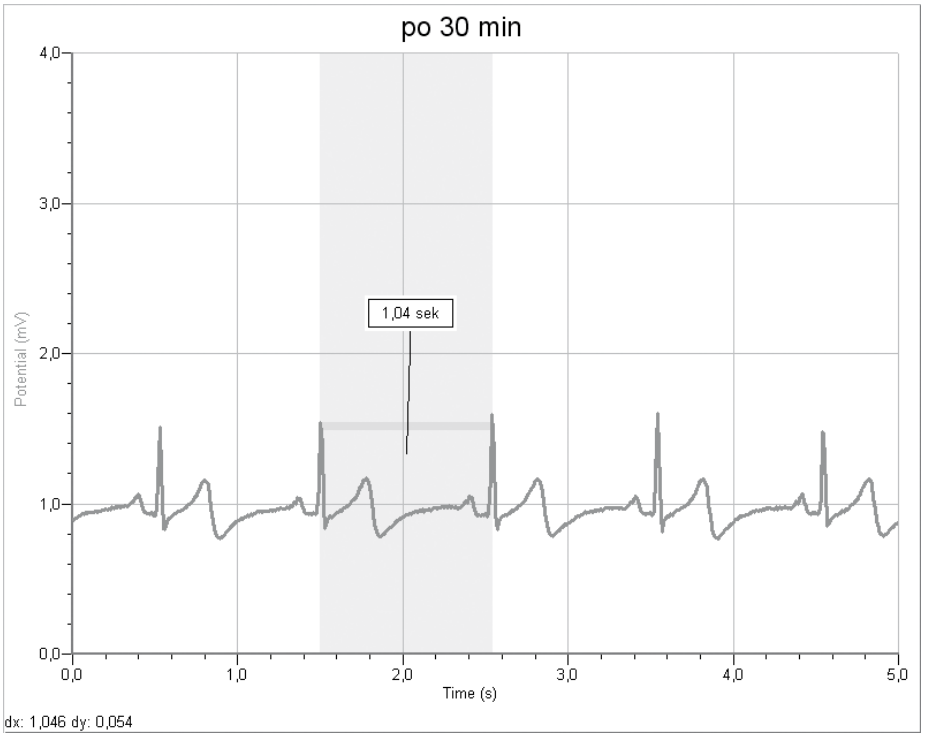
Pred kavo



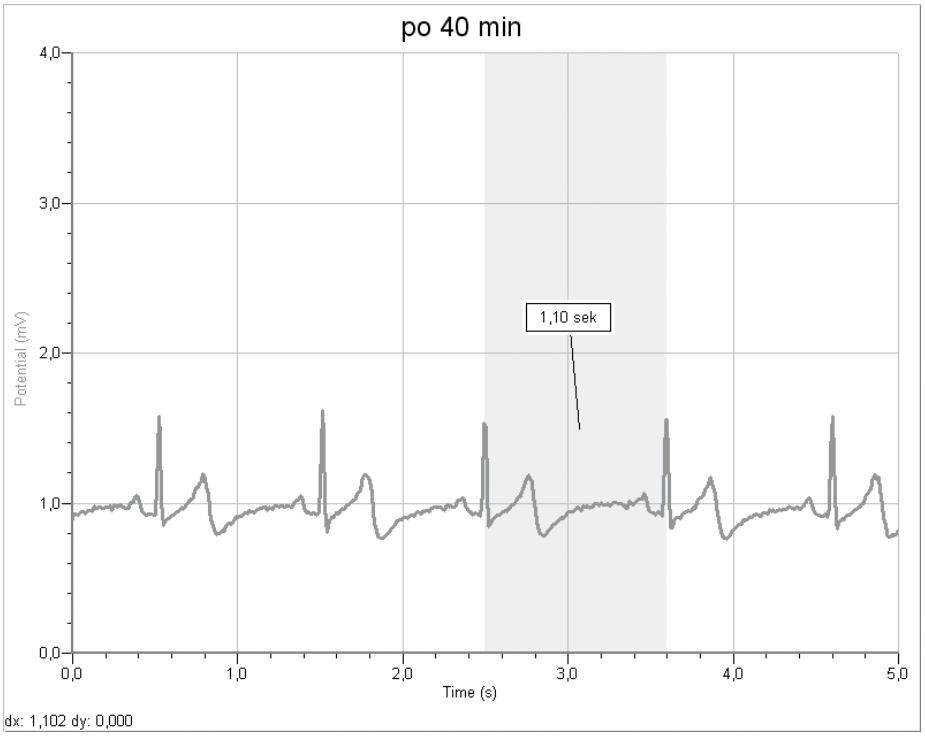
Po 10 minutah



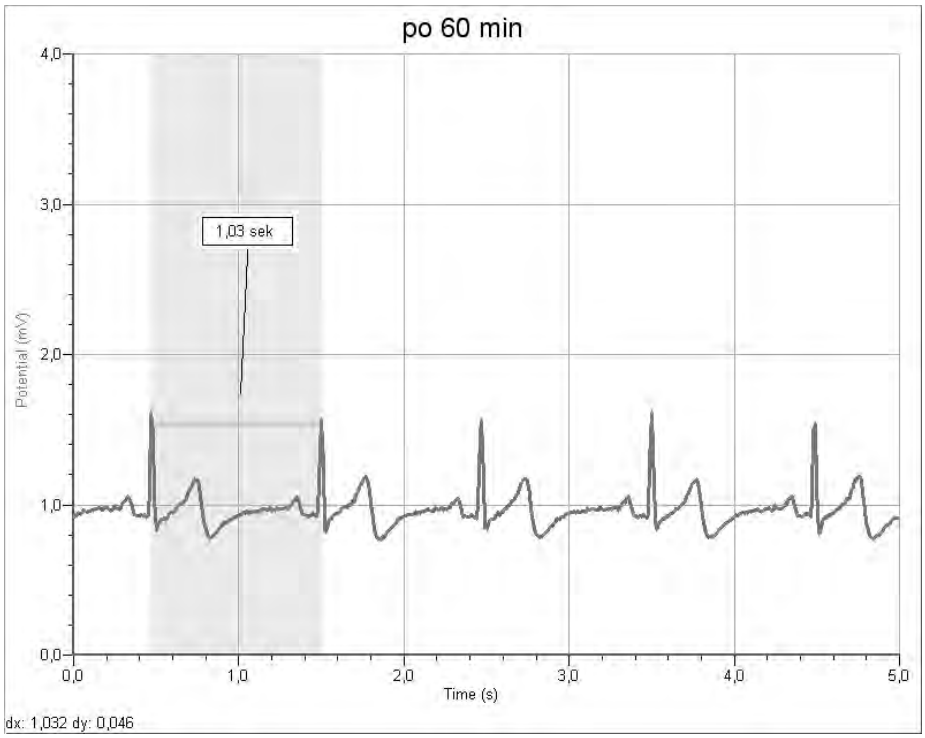
Po 30 minutah



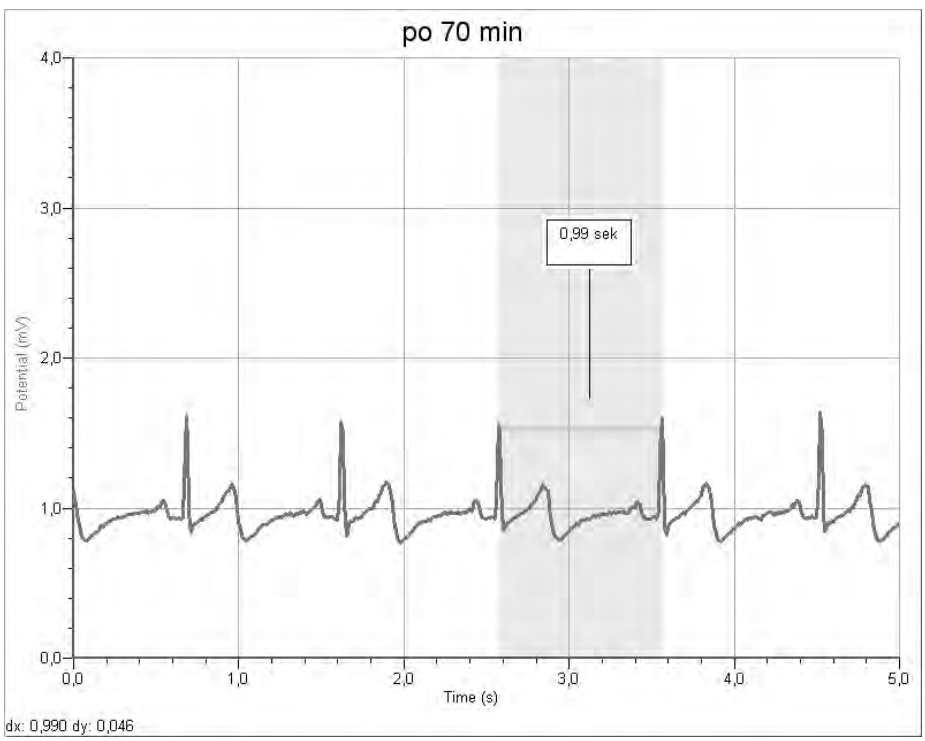
Po 40 minutah



Po 60 minutah



Po 70 minutah



Preglednica 1: Vrednosti 1. in 2. meritve intervala R-R pred zaužitjem kave in v 10-minutnih intervalih naslednjih 70 minut; povprečna vrednost meritev

Časovni interval meritev čas [min]	**1. poskus**	**2. poskus**	**1. poskus**	**2. poskus**	**povprečna vrednost**
	čas [sek]	**čas [sek]**	**FSU**	**FSU**	
pred kavo	0,87	0,98	68,9	61,2	65
po 3 min	0,85	0,94	74,0	63,8	67,1
5 min	0,81	0,95	74,1	63,1	68,6
10 min	0,82	0,96	73,1	62,5	68,0
20 min	0,85	1,03	70,5	58,2	64,3
30 min	0,89	1,04	67,4	57,6	61,6
40 min	0,91	1,11	65,9	54,0	59,9
50 min	1,06	1,09	56,6	55,0	55,8
60 min	0,92	1,03	58,2	58,2	61,7
70 min	0,86	0,99	69,7	60,2	64,7

Legenda: FSU - frekvenca srčnih utripov

Razprava:

Hipoteza je bila pravilna, čas R-R-intervalov v EKG se je skrajšal, vendar se to zgodi samo za nekaj časa. V obdobju 5–10 min po zaužitju se R-R skrajša, potem pa se ponovno podaljša. Iz 0,809 sekund se čas R-R podaljša do 1,060 sekunde, to pomeni, da se je podaljšal za 0,251 sekunde (približno za 30 odstotkov). Ugotovila sem, da je učinek kave prehoden. Po celi uri se srčni ritem ponovno ustali in pristane na skoraj isti vrednosti kot pred poskusom.

Tako lahko predvidevam, da kava na delovanje srca učinkuje tako, da srce pospeši za določen (kratek) čas.

2.3.4 Kako nastane Nernstov potencial?

Asist. dr. Andraž Stožer, dr. med., Inštitut za fiziologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Mariboru

Povzetek

Nernstov potencial je vrednost razlike v električnem potencialu med znotraj- in zunajceličnim prostorom, ki nasprotuje in uravnovesi razliko v kemični potencialni energiji med znotraj- in zunajceličnim prostorom za določen ion. Ta vaja podrobno predstavi nastanek Nernstovega potenciala za kalijeve ione, to je vrednost membranskega potenciala, ki ravno uravnovesi kemično potencialno razliko za kalijeve ione. Ta nastane zaradi različnih koncentracij kalijevih ionov v znotraj- in zunajceličnem prostoru. Razumevanje Nernstovega potenciala za kalijeve ione je prvi in ključni korak do razumevanja mebranskega in akcijskega potenciala. Da bi bilo razumevanje takšno, ki ne zahteva pomnjenja suhoparnih dejstev, so v vaji uporabljene analogije in pot do rezultatov poteka z računanjem ob sodelovanju bralca.

Trajanje

V obliki uvodne teoretične obravnave in računskih vaj: dve uri.

Povezava z biološkimi koncepti in cilji

Ioni, celična membrana, ionski kanali; spoznanje, kako selektivna difuzija kalijevih ionov vodi v nastanek električne potencialne razlike prek celične membrane. F4/66,67; L1

Procesni cilji: P1, P2, P3, P11-P17

Medpredmetne povezave in potrebna predznanja drugih predmetov

- *matematika* – logaritem,
- *fizika* – električna potencialna energija, električna napetost, električni potencial,
- *kemija* – difuzija ionov, kemična potencialna energija.

Teoretična vsebinska izhodišča

To in prihodnje poglavje obravnava električne pojave v celici. Tema je med dijaki in študenti zelo nepriljubljena. To je predvsem posledica nerazumljivosti, ki je rezultanta dveh dejavnikov. Prvi je suhoparnost pri podajanju vsebin elektrostatike in elektrodinamike pri pouku fizike, brez navezave na praktične primere iz vsakdanjega življenja in brez navezave na primere iz manj vsakdanjega, a zato nič manj zanimivega polja bioloških vsebin, med katerimi so eden najlepših primerov

prav električni pojavi v celici. Drugi dejavnik je pomanjkanje dovolj poglobljenega znanja fizike pri pouku biologije, da bi se tema električnih pojavov, ko se nanjo naleti, lahko predstavila dovolj konsistentno, da bi jo dijak in študent razumela. Pisec tega prispevka niti v gimnaziji niti na fakulteti ni razumel električnih pojavov v celici. Če se je bralec razveselil, misleč da potemtakem zagotovo tudi od njega ne bo pričakoval razumevanja, kaj šele navdušenosti nad temo, se je zmotil. Želja avtorja tega poglavja je, da bi ravno prava mešanica fizike in biologije bralcu predstavila osnove električnih pojavov v celici tako, da se jih bo naučil na konceptualni ravni, s čim manj nepotrebnega pomnjenja dejstev. To je kratkoročno nujno za razumevanje poglavij, ki sledijo, dolgoročno pa za razumevanje bitja srca, delovanja možganov, izločanja hormonov in premikanja okončin – najzanimivejših procesov torej, ki nas delajo to, kar smo, in celo omogočajo, da prebiramo te vrstice.

1 Kemična potencialna energija

Da bi lahko razumeli električne pojave v celici, moramo na kratko zapluti tudi v kemijske vode in se spomniti pojma kemične potencialne energije. To je energija, ki jo imajo delci topljenca (ionov ali nenabitih molekul), raztopljeni v določenem topilu, zaradi trkov med delci topljenca in molekulami topila. Kemične potencialne energije pa tudi električnih pojavov v celici ni mogoče zlahka niti razložiti niti razumeti. Na srečo pa si lahko pomagamo z analogijami. Tudi v tem poglavju si bomo. Omenjenih trkov med delci topljenca in molekulami topila je več pri višji temperaturi in pri višji koncentraciji topljenca. Tako ne preseneča, da je kemična potencialna energija večja pri višji temperaturi in pri višji koncentraciji topljenca in jo lahko zapišemo kot:

$$\mu = k \cdot T \cdot \ln c \qquad (1).$$

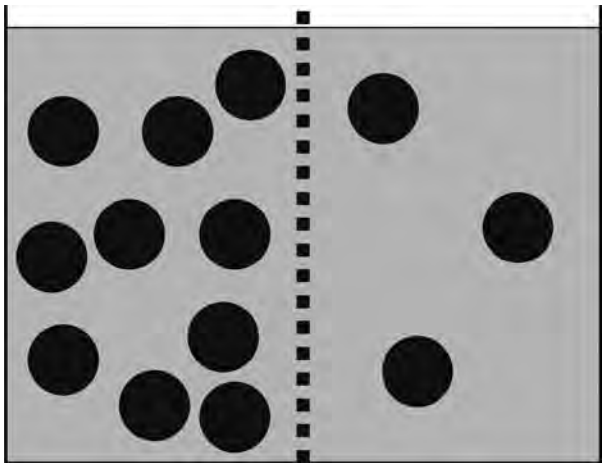
Kemična potencialna energija (grška črka »mi«, μ, ki nastopa npr. tudi v zapisu enote dolžine – mikrometru) je enaka produktu med Boltzmannovo konstanto (k)[1], temperaturo (T, izraženo v stopinjah Kelvina) in naravnim logaritmom koncentracije raztopljenih delcev topljenca (c, izraženo v mol/l).

Kako lahko vidimo kemično potencialno energijo? Predstavljajmo si, da je pred nami raztopina kapljice črnila v kozarcu vode, ki je nastala tako, da je nekdo pred nami v vodo v kozarcu na kratko namočil konico nalivnega peresa. Tudi če jo opazujemo zelo dolgo časa, se z raztopino kot celoto ne dogaja prav veliko. Čeprav vsaka molekula barvila doživlja številne trke z molekulami vode in z drugimi molekulami barvila in se v drobnih skokovitih premikih pomika od enega konca kozarca do drugega (in nazaj po številnih možnih poteh), je skrajno neverjetno, da bi se v danem trenutku vse molekule barvila pomaknile v isti smeri. Zato se tudi po zelo dolgem opazovanju ne zgodi, da bi se barva raztopine v kakšnem delu značilno spremenila. S prostim očesom kemične potencialne energije v tem primeru ne moremo zlahka videti. Z drugimi besedami, vsak majhen del volumna raztopine v kozarcu vsebuje praktično enako koncentracijo raztopljenih molekul črnila in v danem opazovanem obdobju ob naključnih trkih iz sosednjih volumskih delov v določen opazovani majhen del volumna pride enako število delcev, kot jih iz njega odide v sosednje volumne. To velja za vsak majhen volumen raztopine. V jeziku

1 $k = 1{,}38 \cdot 10^{-23}\, JK^{-1}$

kemične potencialne energije lahko rečemo, da je kemična potencialna energija v vsakem majhnem delu volumna kozarca v vsakem trenutku enaka.

Kemično potencialno energijo oziroma posledice po kozarcu neenakomerno razporejene kemične potencialne energije pa lahko opazujemo, če si predstavljamo, kako je nastajala opazovana raztopina črnila v prvih trenutkih po tem, ko se je čiste vode v kozarcu na kratko dotaknila konica nalivnega peresa. V trenutku dotika konice nalivnika je v vodo prešlo veliko molekul črnila, ki pa so bile takoj po stiku z vodo vse v zelo majhnem delu volumna vode v kozarcu. V tej majhni količini vode je bila koncentracija molekul barvila zelo visoka, v vseh majhnih delih volumna okrog tega pa molekul črnila še ni bilo. Zato je s prvimi trki med molekulami črnila in vodo v sosednje dele prešlo zelo veliko molekul črnila. V del, ki vsebuje vse molekule barvila, pa nič molekul barvila. V teh sosednjih volumnih molekul barvila namreč še sploh ni bilo. Posledica je, da se barvilo v tem kratkem opazovanem času pojavi v širšem delu kozarca (tudi v delih, kjer ga prej ni bilo), razredči pa v delu, kjer so bile na začetku zbrane vse molekule barvila. Vsak dobro ve, da se ta proces nadaljuje tako dolgo, dokler molekule barvila niso enakomerno razporejene po celotnem volumnu v kozarcu. Z drugimi besedami, vidno prehajanje barvila se nadaljuje tako dolgo, dokler ni kemična potencialna energija enaka v vsakem malem delu volumna raztopine. Razlika v kemični potencialni energiji med raztopinami z različnimi koncentracijami topljenca pa je tista, ki poganja molekule topljenca s kraja z višjo na kraj z nižjo kemično potencialno energijo, kar imenujemo difuzija. Ker bo razumevanje razlike v kemični potencialni energiji med dvema raztopinama ključno za razumevanje električnih pojavov v celici, si nazadnje predstavljajmo še posodo iz dveh polovic, med katerima je membrana, ki ni prepustna za molekule barvila, koncentracija molekul barvila pa je na eni strani višja kot na drugi. Denimo, da je na sliki 1 koncentracija molekul barvila na levi strani (c_L) višja kot na desni strani (c_D).



Slika 1: Raztopini, ločeni z membrano, neprepustno za molekule topljenca.

Če je temperatura na obeh straneh enaka in znaša T, kemična potencialna energija na levi in desni strani znašata:

LEVO: $\mu_L = k \cdot T \cdot \ln c_L$ (2)

DESNO: $\mu_D = k \cdot T \cdot \ln c_D$ (3).

Razlika v energiji med levo in desno stranjo pa je:

$$\mu_L - \mu_D = k \cdot T \cdot \ln c_L - k \cdot T \cdot \ln c_D = k \cdot T \cdot \left[\ln c_L - \ln c_D\right] \quad (4).$$

Na tem mestu uporabimo še nekaj znanja matematike oziroma pravilo, da za razliko dveh naravnih logaritmov velja, da jo lahko zapišemo kot logaritem razmerja med obema členoma, katerih naravne logaritme odštevamo:

$$k \cdot T \cdot \left[\ln c_L - \ln c_D\right] = k \cdot T \cdot \ln \frac{c_L}{c_D} \quad (5).$$

To pomeni, da je razlika v kemični potencialni energiji med levo in desno stranjo premo sorazmerna z naravnim logaritmom razmerja med koncentracijama na eni in drugi strani. Za razumevanje električnih pojavov na celični membrani je to ena najpomembnejših ugotovitev in jo velja prebrati še enkrat ter si jo dobro zapomniti. Preden se podamo korak naprej k razumevanju električnih pojavov v celici, poglejmo še, kaj bi se zgodilo, če bi odstranili membrano med levo in desno stranjo. Molekule barvila bi seveda prehajale v večji meri z leve proti desni kot z desne proti levi, to pa bi se dogajalo tako dolgo, dokler se koncentraciji ne eni in drugi strani ne bi izenačili. V ravnovesnem stanju bi bila koncentracija na levi strani nižja kot pred odstranitvijo membrane, na desni pa višja. Končna ravnovesna koncentracija je seveda natančno določena s skupno množino delcev na levi in desni strani membrane ($n_L + n_D$) in s skupnim volumnom topila na levi in desni strani membrane ($V_L + V_D$), tako da koncentracija v ravnovesnem stanju (c_R) znaša:

$$c_R = \frac{n_L + n_D}{V_L + V_D} \quad (6),$$

Kemična potencialna energija v ravnovesnem stanju (μ_R) pa:

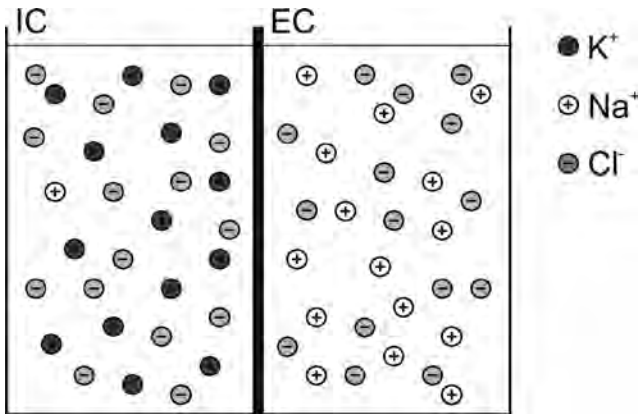
$$\mu_R = k \cdot T \cdot \ln c_R \quad (7).$$

2 Kemična potencialna energija ionov v znotraj- in zunajceličnem prostoru

Celice večinoma delujejo kot zgoraj obravnavani polovici z različnima koncentracijama raztopljenih delcev. Pomembna in za razumevanje električnih pojavov v celici ključna razlika pa je, da raztopljeni delci niso električno nevtralne molekule barvila v črnilu, ampak električno nabiti ioni. Med prehajanjem ionov pa ne pride le do spreminjanja koncentracije ionov, ampak tudi do spreminjanja električnega naboja! *Vse, kar bo sledilo, bo bralec razumel bistveno lažje, če takoj poudarimo, da med dogodki, ki jih bomo obravnavali v nadaljevanju, prehaja iz ene raztopine v drugo tako malo ionov, da se koncentracija ionov na eni in drugi strani praktično ne spremeni, zato bomo spremembo koncentracije praktično zanemarili! Je pa količina naboja, ki jo prenese še tako majhno število ionov, tako značilna, da povzroča vse električne pojave v celici.*

Levo in desno stran iz prejšnjega primera bomo opredelili na novo, tako da bo leva stran ustrezala znotrajceličnemu (intracelularnemu, IC), desna pa zunajceličnemu (ekstracelularnemu, EC) prostoru. Membrana med obema stranema naj bo celična membrana, sestavljena iz dvojnega sloja amfifilnih fosfolipidov, neprepustna za

topljence. Ti naj bodo treh vrst: kalijevi kationi K^+, natrijevi kationi Na^+ in kloridni anioni[2] Cl^- (slika 2).



Slika 2: Razporeditev ionov v znotraj- in zunajceličnem prostoru.

Skupna koncentracija vseh ionov je na eni in drugi strani membrane enaka, hkrati pa je na eni in drugi strani enaka skupna koncentracija pozitivnih in negativnih ionov. V znotrajceličnem prostoru je koncentracija K^+ 140 mmol/l, koncentracija Na^+ 10 mmol/l in koncentracija Cl^- 150 mmol/l. V zunajceličnem prostoru je koncentracija K^+ 4 mmol/l, koncentracija Na^+ 146 mmol/l in koncentracija Cl^- 150 mmol/l. Kemična potencialna energija ionov Cl^- je na obeh straneh enaka, za ione K^+ je večja v znotrajceličnem prostoru, za ione Na^+ pa v zunajceličnem prostoru. Če bi membrana med znotraj- in zunajceličnim prostorom nenadoma postala prepustna za vse tri vrste ionov, kloridni ioni ne bi prehajali skoznjo, kalijevi kationi bi prehajali iz znotrajceličnega v zunajcelični prostor, natrijevi kationi pa v nasprotni smeri. Predpostavimo, da je v normalni celici v mirovanju celična membrana prepustna praktično samo za ione K^+. Ti zato prehajajo z mesta z višjo koncentracijo in večjo kemično potencialno energijo na mesto z nižjo koncentracijo oziroma manjšo kemično potencialno energijo. Glede na naše izkušnje s črnilom v vodi bi pričakovali, da se bo to prehajanje nadaljevalo tako dolgo, dokler se koncentraciji kalijevih kationov na eni in drugi strani ne izenačita. A v resnici se prehajanje ustavi tako hitro, da preide iz znotrajcelične na zunajcelično stran tako malo ionov, da spremembe v koncentraciji na eni in drugi strani praktično skoraj ne moremo zaznati. Zakaj se to zgodi?

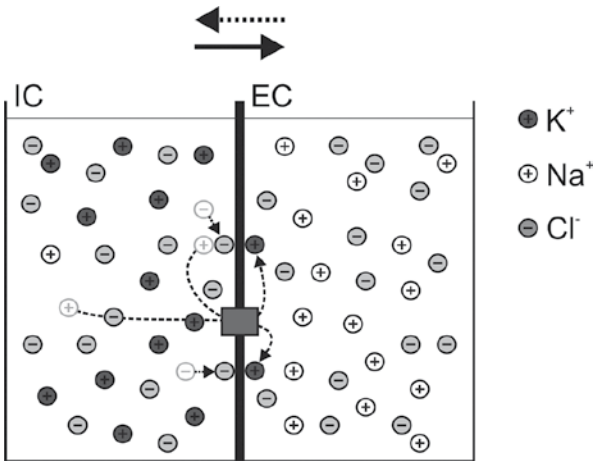
3 Električna potencialna energija

Odgovor ni tako preprost, kot bi si želeli. Da bi ga razumeli, moramo vpeljati oziroma se spomniti preprostega pojma iz elektrostatike, to je električna potencialna energija, ki jo bomo označili z grško črko »epsilon«, ε, in je opredeljena kot zmnožek med električnim potencialom (φ) in električnim nabojem določenega iona:

$$\varepsilon = \varphi \cdot z \cdot e_0 \qquad (8).$$

[2] *V resnici na znotrajcelični in zunajcelični strani znaten delež negativnih nabojev prispevajo naboji na beljakovinah in hidrogenkarbonatni anion. Zaradi poenostavitve v našem primeru vse negativne naboje pripisujemo kloridnim anionom.*

Pri tem naj bo bralec pozoren, da je naboj iona enak zmnožku med valenco (z) in velikostjo elementarnega naboja (e_0)[3]. Električni potencial φ je odvisen od presežka negativnih oziroma pozitivnih ionov. Kjer je presežek pozitivnih ionov, je električni potencial pozitiven, kjer je presežek negativnih ionov, pa negativen. Dokler je na obeh straneh celične membrane ionska sestava takšna, kot smo jo opisali v začetku tega poglavja, na nobeni strani membrane ni presežka niti negativnih niti pozitivnih ionov. Membranski potencial je zato na obeh straneh membrane enak in po dogovoru, kot ga bomo uporabili tu, na obeh straneh znaša 0 voltov. Kaj pa se zgodi, ko kalijevi kationi začno prehajati iz znotrajceličnega v zunajcelični prostor? Z vsakim ionom K^+, ki preide v zunajcelični prostor, se v njem pojavi nov pozitivni ion, ki nima svojega para v obliki negativnega iona Cl^-. Po drugi strani pa se na znotrajcelični strani pojavi negativni ion Cl^-, ki je ostal brez svojega para v obliki iona K^+, ki je zapustil celico. Iona se preko membrane privlačita in ležita na eni in drugi strani membrane tako, da si ležita nasproti na najmanjši mogoči razdalji (slika 3).



Slika 3. Prehajanje K^+ iz znotrajceličnega v zunajcelični prostor »zgradi« razliko v električnem potencialu (črtkana črta nad bazenom, ki kaže v levo), ki začne nasprotovati razliki v kemičnem potencialu (polna črta nad bazenom, ki kaže v desno). Na sliki sta v zunajcelični prostor prešla dva iona K^+ (črtkani črti, ki potekata od svetlo označenih pozitivnih ionov in kažeta prejšnja položaja ionov K^+), ki sta ustvarila skupen presežek dveh pozitivnih nabojev zunaj in dveh negativnih nabojev znotraj celice. Kloridna iona (za katera celica ni prepustna) sta se pomaknila na najbližjo mogočo razdaljo od ionov K^+, ki sta prešla na drugo stran (črtkani črti od svetlo označenih negativnih ionov).

Zaradi prehajanja K^+ iz celice se vrednost električnega potenciala in električne potencialne energije v zunajceličnem prostoru zveča, v znotrajceličnem pa pade. Navadno se pri obravnavi tega dogajanja dogovorimo, da se električni potencial v zunajceličnem prostoru ne spreminja, spremembe v znotrajceličnem prostoru pa upoštevamo dvojno. Namesto da bi rekli, da se je potencial v znotrajceličnem prostoru znižal za npr. 1 milivolt (mV), v zunajceličnem pa zvišal za 1 mV, tako rečemo, da se električni potencial v zunajceličnem prostoru ni spremenil, v znotrajceličnem pa se je znižal za 2 mV. Tej zmedi pri obravnavanju sprememb v električnem potencialu pa se bomo v nadaljevanju k sreči elegantno izognili, ker se

3 $e_0 = 1{,}6 \cdot 10^{-19} C$

bo kot pomembna izkazala samo razlika v električnem potencialu med znotraj- in zunajceličnim prostorom, ne pa absolutna vrednost enega in drugega potenciala.

4 Nernstov ravnotežni potencial

Če se vrnemo k prehajanju ionov K^+ iz znotrajceličnega v zunajcelični prostor, lahko ugotovimo, da večja kemična potencialna energija v znotrajceličnem prostoru v primerjavi s kemično potencialno energijo v zunajceličnem prostoru ione K^+ sicer sili v smeri ven iz celice (polna puščica na sliki 3), da pa se zaradi tega prehajanja začne pojavljati razlika v električni potencialni energiji (črtkana puščica na sliki 3), ki je na začetku ni bilo in ki se veča z vsakim ionom K^+, ki zapusti celico. Pri tem je električna potencialna energija v zunajceličnem prostoru vedno večja, električna potencialna energija v znotrajceličnem prostoru pa zmeraj manjša. Z vidika električne potencialne energije je zato prehajanje ionov K^+ energijsko vedno manj ugodno. Prehajanje ionov K^+ v zunajcelični prostor poteka le tako dolgo, dokler razlika v kemični potencialni energiji (ki ione K^+ sili iz celice) ni nasprotno enaka razliki v električni potencialni energiji (ki ione K^+ sili nazaj v celico) oziroma dokler vsota obeh energijskih razlik, ki poganjata ione K^+, ne doseže vrednosti 0:

$$\mu_{IC} - \mu_{EC} = -\left[\varepsilon_{IC} - \varepsilon_{EC}\right] \tag{9}$$

oziroma

$$\mu_{IC} - \mu_{EC} + \left[\varepsilon_{IC} - \varepsilon_{EC}\right] = 0 \tag{10}.$$

Nadobuden bralec pa bo na tem mestu zaskrbljeno vprašal, katere vrednosti kemične potencialne energije za ione K^+ je treba pri tem upoštevati. Če namreč ioni prehajajo iz znotrajceličnega v zunajcelični prostor, njihova koncentracija v znotrajceličnem prostoru začne padati, v zunajceličnem pa naraščati, enako se dogaja s kemično potencialno energijo.

Povsem na koncu naslednjega poglavja bomo pokazali, da se ravnovesje vzpostavi pri praktično nespremenjenih koncentracijah K^+ v znotraj- in zunajceličnem prostoru. Če to drži, lahko v enačbi 9 upoštevamo začetne vrednosti kemične potencialne energije in izračunamo vrednost razlike v električnem potencialu med znotraj- in zunajceličnim prostorom v ravnovesnem stanju:

$$k \cdot T \cdot \ln c_{IC} - k \cdot T \cdot \ln c_{EC} = -\left[\varphi_{IC} \cdot z \cdot e - \varphi_{EC} \cdot z \cdot e\right],$$

$$\left[\varphi_{IC} - \varphi_{EC}\right] \cdot z \cdot e = -k \cdot T \cdot \left[\ln c_{IC} - \ln c_{EC}\right] \tag{11}.$$

To razliko $(\varphi_{IC} - \varphi_{EC})$ imenujemo tudi Nernstov ravnotežni potencial in označimo z veliko črko N in ji pripišemo indeks, ki označuje ion, na katerega se nanaša. V našem primeru torej uporabimo N_K in za Nernstov ravnotežni potencial za ione K^+ dobimo:

$$N_K = -\frac{k \cdot T}{z \cdot e} \cdot \left[\ln c_{IC} - \ln c_{EC}\right] \tag{12}.$$

Če tako kot prej upoštevamo pravilo za zapis razlike naravnih logaritmov, dobimo:

$$N_K = -\frac{k \cdot T}{z \cdot e} \cdot \ln \frac{c_{IC}}{c_{EC}} \qquad (13).$$

Slika 4: Walther Hermann Nernst (1864-1941). (Vir: Wikipedia, prosta enciklopedija)
Oče Nernstove enačbe je Walther Hermann Nernst, ki je za svoje delo na področju termokemije prejel Nobelovo nagrado za kemijo za leto 1920.

Priloga

Praktična vaja in rešitve: Kako nastane Nernstov potencial?

Praktična vaja in rešitve

Kako nastane Nernstov potencial?

Za preprostejše računanje v nadaljevanju poenostavi enačbo 13, tako da vanjo vstaviš vrednosti fizikalnih konstant in upoštevaš temperaturo 37 °C.

Rešitev: $N_K = -\frac{1{,}38 \cdot 10^{-23}\, JK^{-1} \cdot 310K}{z \cdot 1{,}6 \cdot 10^{-19}\, JV^{-1}} \cdot \ln \frac{c_{IC}}{c_{EC}} = -\frac{26{,}7mV}{z} \cdot \ln \frac{c_{IC}}{c_{EC}}$ (14).

V enačbi 14 naravni logaritem zamenjaj z desetiškim.

Rešitev:

Ker velja:

$$\ln X = \frac{\log X}{\log e} \quad (15),$$

Za vrednost Nernstovega potenciala dobimo:

$$N_K = -\frac{26{,}7mV}{z} \cdot \ln \frac{c_{IC}}{c_{EC}} = -\frac{26{,}7mV}{z \cdot \log e} \cdot \log \frac{c_{IC}}{c_{EC}} = -\frac{26{,}7mV}{z \cdot 0{,}434} \cdot \log \frac{c_{IC}}{c_{EC}}$$

in

$$N_K = -\frac{61{,}5mV}{z} \cdot \log \frac{c_{IC}}{c_{EC}} \quad (16).$$

Ob upoštevanju koncentracije ionov K^+ v znotraj- in zunajceličnem prostoru izračunaj Nernstov potencial za ione K^+.

Rešitev:

$$N_K = -\frac{61{,}5mV}{+1} \cdot \log \frac{140mM}{4mM} = -95mV.$$

Ta rezultat nam pove, da ioni K^+ pri koncentraciji 140 mM v znotraj- in 4 mM v zunajceličnem prostoru prehajajo v zunajcelični prostor, dokler se med znotrajceličnim in zunajceličnim prostorom ne vzpostavi razlika v električnem potencialu velikosti –95 mV. Negativni predznak pove, da je v ravnovesnem stanju električni potencial v znotrajceličnem prostoru za 95 mV nižji od vrednosti v zunajceličnem prostoru. Ta rezultat je lažje razumljiv tudi, če si predstavljamo, da pozitivno nabiti ioni K^+, ki so že prešli v zunajcelični prostor, odbijajo ione K^+, ki jih razlika v kemični potencialni energiji »tišči« ven, negativno nabiti kloridni ioni znotraj celice pa jih privlačijo. Eno in drugo zavira prehajanje novih ionov K^+ navzven.

2.3.5 V čem se membranski potencial razlikuje od Nernstovega?

Asist. dr. Andraž Stožer, dr. med.; prof. dr. Marjan Slak Rupnik, Inštitut za fiziologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Mariboru

Povzetek

Membranski potencial je razlika v električnem potencialu med znotrajceličnim in zunajceličnim prostorom, ki nastane zaradi neenakomerne razporeditve ionov na eni in drugi strani celične membrane in ga določajo vsi ioni, za katere je membrana prepustna. Vsak ion k vrednosti membranskega potenciala prispeva del svojega Nernstovega potenciala. Ta del pa je določen z deležem, ki ga prevodnost za dani ion predstavlja glede na skupno prevodnost. Ta vaja podrobno predstavi postopek izračuna Nernstovega potenciala za natrijeve ione in pokaže, zakaj je vrednost membranskega potenciala bolj pozitivna od vrednosti Nernstovega potenciala za kalijeve ione. Prav tako razloži, kako na membranski potencial vpliva spreminjanje prevodnosti za natrijeve in kalijeve ione in kako to pomaga razumeti akcijski potencial.

Trajanje

V obliki predavanja in praktične vaje: dve uri.

Povezava z biološkimi koncepti in cilji

Ioni, celična membrana, ionski kanali, Nernstov potencial; spoznanje, kako hkratna difuzija natrijevih in kalijevih ionov vodi v nastanek membranskega potenciala. F4/66,67; L1

Procesni cilji: P1, P2, P3, P11-P17

Medpredmetne povezave in potrebna predznanja drugih predmetov

- *matematika:* logaritem,
- *fizika:* električna potencialna energija, električna napetost, električni potencial,
- *kemija:* difuzija ionov, kemična potencialna energija

Teoretična vsebinska izhodišča

Če bi bila celična membrana prepustna samo za ione K^+, bi v mirovanju med znotrajceličnim in zunajceličnim prostorom obstajala razlika v električnem potencialu v velikosti –95 mV, z drugimi besedami, mirovni membranski potencial bi znašal –95 mV, kar je vrednost Nernstovega potenciala za kalijeve ione.

To je tudi vrednost, ki je zelo blizu vrednostim, ki jih lahko dejansko izmerimo v različnih celicah v mirovanju. Dejansko izmerjene vrednosti pa so rahlo bolj pozitivne. Da bi razumeli, zakaj, kot tudi za razumevanje dogajanja, ko celica ni v električno mirovnem stanju, moramo upoštevati še ione Na^+.

Učni list 1

V čem se membranski potencial razlikuje od Nernstovega?

1 Nernstov potencial za natrijeve ione

Najprej poglejmo, kakšna razlika v električnem potencialu bi se vzpostavila preko celične membrane, če bi celica bila prepustna samo za ione Na^+. Z drugimi besedami, poglejmo, kakšna je vrednost Nernstovega potenciala za ione Na^+.

1. *Ob upoštevanju podanih koncentracij ionov Na^+ v znotraj- in zunajceličnem prostoru izračunaj vrednost Nernstovega potenciala za ione Na^+.*

Rešitev: $N_{Na} = -\frac{61{,}5mV}{+1} \cdot \log \frac{10mM}{146mM} = 71{,}6mV$

Ta rezultat nam pove, da ioni Na^+ pri koncentraciji 10 mM v znotraj- in 146 mM v zunajceličnem prostoru prehajajo v znotrajcelični prostor, dokler se med znotrajceličnim in zunajceličnim prostorom ne vzpostavi razlika v električnem potencialu velikosti +71,6 mV. Pozitivni predznak, ki smo ga posebej izpostavili, pove, da je v ravnovesnem stanju električni potencial v znotrajceličnem prostoru za 71,6 mV višji od vrednosti v zunajceličnem prostoru. Z drugimi besedami, v primeru ionov Na^+ razlika v kemični potencialni energiji sili ione v znotrajcelični prostor. Njihovo prehajanje ustvari presežek pozitivnih ionov v znotrajceličnem in presežek negativnih ionov v zunajceličnem prostoru. Z vidika električne potencialne energije zato prehajanje ionov Na^+ postaja vse manj ugodno, dokler se pri vrednosti membranskega potenciala 71,6 mV ne ustavi.

2 Membranski potencial

V resnici je celična membrana prepustna tako za ione K^+ kot za ione Na^+. V tem primeru membranski potencial zavzame vrednost, ki jo določata oba iona. Vsak ion pa ima tem večji vpliv, čim večja je prepustnost za ta ion. Ta odnos izraža tako imenovana Goldman-Hodgkin-Katzova enačba[4]:

$$MP = \frac{N_{Na} \cdot p_{Na} + N_K \cdot p_K}{p_{Na} + p_K} \qquad (1).$$

Pri tem je MP vrednost membranskega potenciala (razlika v električnem potencialu med znotraj- in zunajceličnim prostorom), N_{Na} in N_K sta vrednosti Nernstovih potencialov za ione Na^+ in K^+, p_{Na} in p_K pa vrednosti prepustnosti membrane za ione Na^+ in K^+. Fizikalna enota za prepustnost, imenovana tudi električna prevodnost, je siemens, in je obratna vrednost električne upornosti, katere fizikalna enota je ohm. Izpeljava enačbe 1 je zahtevnejša in smo jo prihranili za najbolj nadobudne bralce, ki jo najdejo v knjigi *Izbrana poglavja iz fiziologije za študente medicine z navodili za vaje* (Andraž Stožer et al., 2012). Enačba sama pa je izjemno preprosta in omogoča hitro izračunavanje vrednosti membranskega potenciala, če le poznamo prevodnosti za en in drug ion. Preprosto preoblikovanje enačbe 1 še bolj nazorno pove, da je pri-

[4] *Tudi Bernard Katz (1911–2003) in Alan Hodgkin (1914–1998) sta za svoje delo prejela Nobelovo nagrado. Prvi leta 1970, drugi leta 1963.*

spevek posameznega iona k vrednosti MP sorazmeren z deležem, ki ga prevodnost za ta ion predstavlja glede na skupno prevodnost:

$$MP = N_{Na} \cdot \frac{p_{Na}}{p_{Na} + p_K} + N_K \cdot \frac{p_K}{p_{Na} + p_K}$$

2. *Predpostavi, da je v mirovanju celična membrana za ione K^+ prevodna 20-krat bolj kot za ione Na^+. Ali lahko s pomočjo tega podatka izračunaš vrednost membranskega potenciala?*

Rešitev:

$$MP = \frac{N_{Na} \cdot p_{Na} + N_K \cdot p_K}{p_{Na} + p_K}$$

in

$$p_K = 20 \cdot p_{Na}.$$

Od tod sledi:

$$MP = \frac{N_{Na} \cdot p_{Na} + N_K \cdot 20 \cdot p_{Na}}{p_{Na} + 20 \cdot p_{Na}} = \frac{p_{Na} \cdot (N_{Na} + 20 \cdot N_K)}{21 \cdot p_{Na}} =$$

$$\frac{71{,}6mV + 20 \cdot (-95mV)}{21} = -87{,}1mV.$$

Ta rezultat nam pove, da je vrednost membranskega potenciala blizu vrednosti Nernstovega potenciala za ione K^+, a rahlo večja, ker je membrana malo (20-krat manj kot za ione K^+) prepustna tudi za ione Na^+, katerih Nernstov potencial je pozitiven (+71,6 mV). Zelo pomembna je tudi ugotovitev, da nam za izračun vrednosti membranskega potenciala ni treba poznati absolutnih vrednosti prepustnosti membrane za ione, ampak le razmerje med prepustnostjo za ione Na^+ in K^+.

3. *Kakšno je razmerje med prepustnostjo za ione K^+ in Na^+, $\frac{p_K}{p_{Na}}$, če je vrednost membranskega potenciala 56,5 mV?*

Rešitev:

$$MP = \frac{N_{Na} \cdot p_{Na} + N_K \cdot p_K}{p_{Na} + p_K}$$

in

$$p_K = X \cdot p_{Na}$$

Od tod sledi:

$$MP = \frac{N_{Na} \cdot p_{Na} + N_K \cdot X \cdot p_{Na}}{p_{Na} + X \cdot p_{Na}} = \frac{p_{Na} \cdot (N_{Na} + X \cdot N_K)}{p_{Na} \cdot (1 + X)}.$$

V številcu in imenovalcu se p_{Na} pokrajša in za vrednost X izpeljemo:

$$N_{Na} + X \cdot N_K = MP \cdot (1 + X) \Rightarrow$$

$$X \cdot (N_K - MP) = MP - N_{Na}$$

in

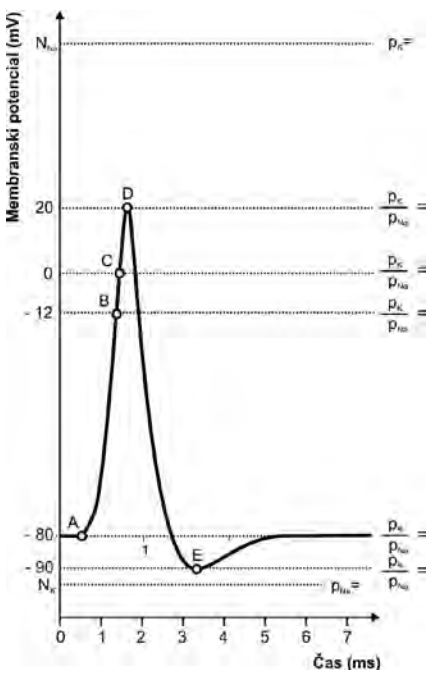
$$X = \frac{MP - N_{Na}}{N_K - MP} = \frac{56{,}5mV - 71{,}6mV}{-95mV - 56{,}5mV} \approx 0{,}1\cdot$$

Pri vrednosti membranskega potenciala 56,5 mV je prepustnost za ione Na^+ približno 10-krat večja od prepustnosti za ione K^+.

3 Akcijski potencial

V električno vzdražnih celicah se vrednost membranskega potenciala spreminja zaradi spreminjanja prevodnosti celične membrane za ione K^+ in Na^+. Med hitrim značilnim spreminjanjem vrednosti membranskega potenciala, ki mu pravimo akcijski potencial, se hitro zveča prevodnost za ione Na^+, zaradi česar se zmanjša vrednost razmerja $\frac{p_K}{p_{Na}}$ in membranski potencial postane pozitiven in se približa vrednosti Nernstovega potenciala za Na^+. Ker so ionski kanalčki, ki prepuščajo ione skozi celično membrano, občutljivi na vrednost membranskega potenciala, se kanalčki za Na^+ začnejo zapirati, odpirajo pa se kanalčki, prepustni za K^+. Zato se razmerje $\frac{p_K}{p_{Na}}$ spet zveča in vrednost membranskega potenciala se spet zniža. Ker je vrednost razmerja prehodno celo večja kot v mirovanju, pride do znižanja membranskega potenciala do vrednosti, bolj negativnih od vrednosti v mirovanju (glej tudi vajo »Akcijski potencial«). Po tem prehodnem pojavu prepustnosti za Na^+ in K^+ dosežeta začetni vrednosti in membranski potencial zavzame vrednost mirovnega membranskega potenciala.

4. *Za točke A-E, označene na sliki 1, izračunaj razmerje $\frac{p_K}{p_{Na}}$ in jih vnesi na desni strani slike. Prav tako označi, koliko znaša prevodnost za Na^+, ko membranski potencial zavzema vrednost N_K, in koliko znaša prepustnost za K^+, ko membranski potencial zavzema vrednost N_{Na}.*



Slika 1: Časovni potek akcijskega potenciala v nevronu. Vrednost mirovnega membranskega potenciala je namerno postavljena v drugo vrednost kot zgoraj v besedilu, zato da bo dijak moral na novo izračunati vrednost razmerja med prevodnostima za kalijeve in natrijeve katione.

Rešitev:

p_K=0, v točki A velja $\frac{p_K}{p_{Na}} = 10$, v točki B velja $\frac{p_K}{p_{Na}} = 1$, v točki C velja $\frac{p_K}{p_{Na}} = 0{,}75$, v točki D velja $\frac{p_K}{p_{Na}} = 0{,}45$, v točki E velja $\frac{p_K}{p_{Na}} = 32$, p_{Na}=0.

5. *[5] *Pa ocenimo še, koliko ionov steče z ene na drugo stran plazmaleme do vzpostavitve Nernstovega potenciala za K^+ in kolikšen delež ionov v zunaj- oziroma znotrajceličnem prostoru predstavlja ta številka. Kot primer bomo obravnavali srčnomišično celico (kardiomiocit, KMC), katere akcijski potencial bomo podrobneje spoznali v poglavju Elektrokardiogram.*

Rešitev:

KMC je valjaste oblike in meri v premeru 15 µm in v dolžino 100 µm. Površina celične membrane takšne celice znaša približno 4500 μm^2. Specifična kapacitivnost (kapacitivnost na enoto površine) plazmaleme je približno 1 mF/cm^2 (= 10 $fF/\mu m^2$ = 1 x 10^{-14} $F/\mu m^2$). Tako kapacitivnost membrane kardiomiocita znaša približno 45000 fF (45 pF oz. 4,5 x 10^{-11} F).

Kapacitivnost (*C*), naboj (*e*) in napetost (*U*) povezuje enačba:

$$C = \frac{e}{U} \qquad (2).$$

Pri membranskem potencialu –95 mV je na membrani kardiomiocita skupen naboj:

$$e = C \times U = 4{,}5 \times 10^{-11} F \times 0{,}095 V \approx 0{,}43 \times 10^{-11} C.$$

Ker vsak nabit delec nosi naboj 1,6x10^{-19}C, je na zunanji površini plazmaleme mirujočega KMC 27 milijonov pozitivnih, na notranji površini pa enako število negativno nabitih delcev:

$$N = \frac{e}{e_0} = \frac{0{,}43 \times 10^{-11} C}{1{,}6 \times 10^{-19} C} = 2{,}7 \times 10^7 \qquad (3).$$

Razmerje med volumnom znotraj- in zunajceličnega prostora je približno 2:1. Volumen tipičnega KMC je približno 17000 μm^3 (=17x10^{-12} l), kar pomeni, da vsakemu KMC pripada zunajcelični prostor volumna približno 8500 μm^3 (= 8,5 x 10^{-12} l). Vsak liter znotrajcelične tekočine vsebuje 140 mmol in vsak liter zunajcelične tekočine KMC 4 mmol K^+. V pripadajoči zunajceličnini je tako približno 2 x 10^{10} ionov K^+:

$$N = n \times N_A = c \times V \times N_A = 0{,}004 mol/l \times 8{,}5 \times 10^{-12} l \times 6 \times 10^{23}/mol = 2{,}0 \times 10^{10} \quad (4),$$

in v znotrajceličnem prostoru enega KMC približno 1,4x10^{12} ionov K^+:

$$N = n \times N_A = c \times V \times N_A = 0{,}14 mol/l \times 17 \times 10^{-12} l \times 6 \times 10^{23}/mol = 1{,}4 \times 10^{12}.$$

[5] *Zvezdica označuje dejstvo, da je naloga zahtevnejša, saj vključuje tudi koncept kapacitivnosti.*

27 milijonov ionov K^+, ki zapustijo znotrajcelični prostor, predstavlja glede na vse ione K^+ znotraj celice:

$$\frac{2{,}7 \cdot 10^7}{1{,}4 \cdot 10^{12}} \approx 1{,}9 \cdot 10^{-5} = 0{,}0019\%$$

In glede na vse ione K^+ zunaj celice:

$$\frac{2{,}7 \cdot 10^7}{2{,}0 \cdot 10^{10}} \approx 1{,}4 \cdot 10^{-3} = 0{,}14\% \cdot$$

Ta rezultat nam pove, da depolarizacija spremeni koncentracijo ionov tako malo, da lahko to spremembo zanemarimo (kar smo tudi naredili).

4 Prevajanje akcijskega potenciala

Akcijski potencial pomeni spremembo v električnem potencialu preko plazmaleme. Zato ker se spremeni potencial v dani točki ob membrani zunaj oziroma znotraj celice tudi glede na sosednje dele membrane, kjer se ne odvija akcijski potencial, se pojavi tok pozitivnih ionov v znotrajceličnem prostoru proti še nedepolariziranim delom, kar povzroči depolarizacijo in odpiranje na napetost občutljivih ionskih kanalov za Na^+ in sproženje akcijskega potenciala tudi v teh delih membrane. Na tak način se električna motnja širi vzdolž celice in v telesu se ta pojav izkorišča za prevajanje signalov.

2.3.6 Akcijski potencial

Dr. Maša Skelin Klemen, Inštitut za fiziologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Mariboru

Povzetek

Prispevek v prvem delu obravnava razliko med stopenjskim in akcijskim potencialom, nato se v celoti posvetimo akcijskemu potencialu (AP). V vzdražnih celicah pražni dražljaj povzroči depolarizacijo membrane do vzdražnega praga, kar sproži nastanek AP. AP je hitra prehodna depolarizacija, pri kateri membranski potencial za kratek čas doseže tudi pozitivne vrednosti. Za prenos informacije na daljše razdalje je nujno potovanje informacije vzdolž celotne dolžine aksona brez upadanja signala, kar zagotavlja AP s stalno obliko in amplitudo. Naloga na koncu prispevka je namenjena konstrukciji AP na podlagi podanih prevodnosti membrane za posamezne ione.

Trajanje

V obliki predavanja in računske vaje: najmanj dve uri.

Povezava z biološkimi koncepti in cilji

F4-66, F4-67, P1-P4, P11-P17.

Medpredmetne povezave in potrebna predznanja drugih predmetov

- *fizika*

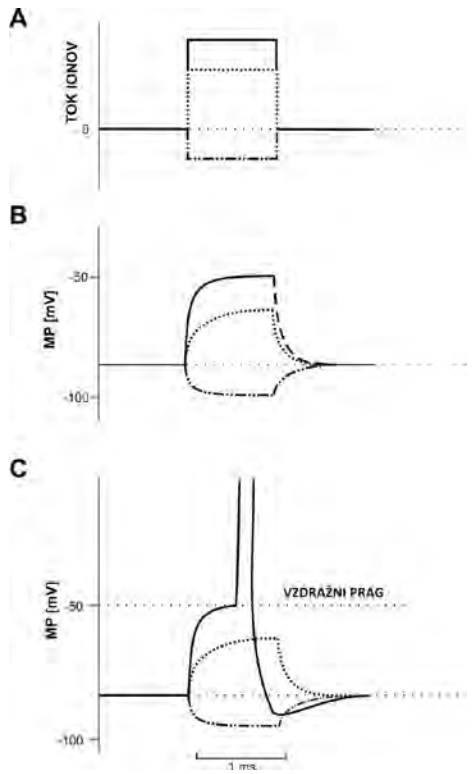
Teoretično vsebinska izhodišča

Akcijski in stopenjski potencial

Dražljaji različne narave (električni, kemični, svetlobni) sprožijo tok ionov skozi plazmalemo, kar povzroči spremembo v membranskem potencialu (MP). Zunanji dražljaj v senzoričnih (čutilnih) živčnih končičih sproži spremembo MP, kar imenujemo receptorski potencial. Če sprememba v MP nastane na postsinaptični membrani kemične sinapse zaradi delovanja živčnega prenašalca, imenujemo tak potencial postsinaptični potencial (PSP). Tako receptorski potencial kot sinaptični potencial sta stopenjska (graduirana) potenciala, kjer večji dražljaj sproži večjo spremembo MP. Stopenjski potencial se na druge dele celice širi elektrotonično, pri čemer potencial pada z razdaljo od mesta nastanka in izgine v oddaljenosti nekaj milimetrov. Fiziološki odgovor na stopenjsko spremembo MP je tako odvisen od jakosti dražljaja.

Širjenje spremembe MP je nujno za prenos električnega signala tako na ravni posamezne celice kot po celotnem organizmu. Veliko podpražnih potencialov se na kratke razdalje prenese elektrotonično. Če bi se informacija po aksonu nevrona

prenašala zgolj elektrotonično, bi obstajala velika možnost, da električni signal ne bi dosegel konca aksona, saj bi prej zamrl. Potovanje potenciala z nezmanjšano jakostjo je tako nujno, da električni impulz prepotuje celotno dolžino dolgega aksona. Takšne lastnosti imajo poleg nevronov še membrane miocitov (mišičnih celic) in celic z notranjim izločanjem, ki jih prištevamo med vzdražne celice. V teh celicah pražni dražljaj povzroči depolarizacijo membrane do vzdražnega praga, kar sproži nastanek akcijskega potenciala (AP). AP je hitra prehodna depolarizacija, pri kateri membranski potencial za kratek čas doseže tudi zelo pozitivne vrednosti.



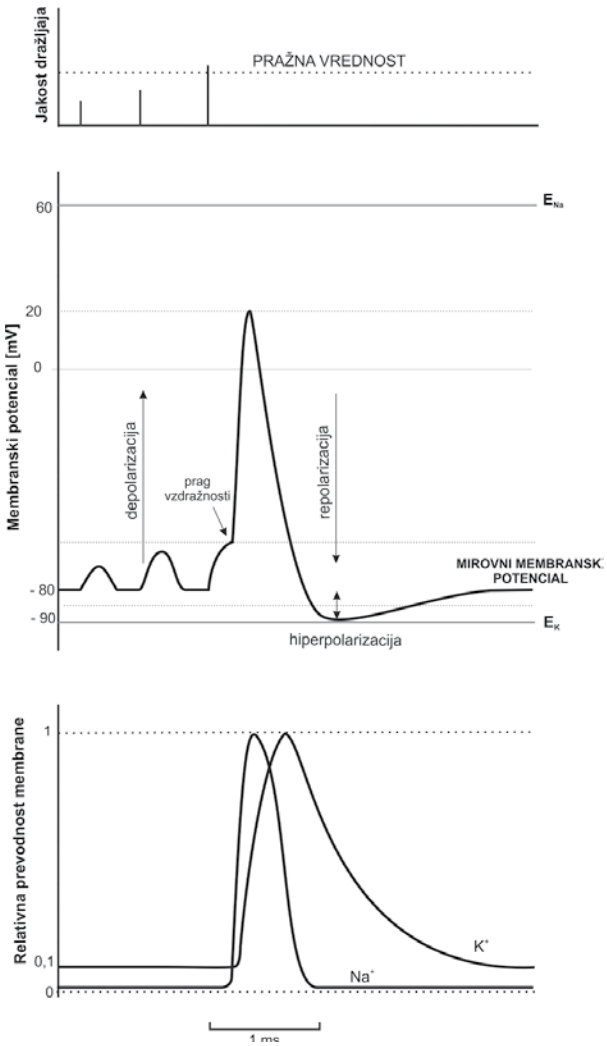
Slika 1: Ionski tok (A) sproži spremembo v MP. V primeru stopenjskega potenciala (B) je sprememba v MP odvisna od amplitude ionskega toka, medtem ko v vzdražnih celicah pražni dražljaj sproži dovolj velik tok ionov, da se membrana depolarizira do vzdražnega praga in nastane AP (C).

Nastanek akcijskega potenciala

Akcijski potencial (AP) se od stopenjskega odgovora razlikuje v tem, da gre pri AP za veliko večji odgovor na dražljaj, pri čemer se polarizacija membrane obrne – notranjost celice postane bolj pozitivna od zunanjosti. Poleg tega se AP širi vzdolž celotne dolžine aksona brez upadanja signala, saj sta oblika in amplituda AP stalni. V primeru nadpražnih dražljajev AP ostane enak. Dražljaj lahko tako bodisi sproži nastanek AP bodisi ga ne sproži, zato govorimo o AP kot odgovoru tipa »vse ali nič«.

Zakaj je oblika AP stalna? Odgovor na to vprašanje nam ponuja razumevanje nastanka AP, ki ga določajo lastnosti Na^+- in K^+-napetostno odvisnih kanalčkov. Podpražen dražljaj ne povzroči AP, saj depolarizacija membrane ne doseže vzdražnega praga. Šele depolarizacija do pražne vrednosti aktivira Na^+-napetostno odvisne kanalčke in prevodnost membrane za Na^+ se hitro in prehodno poveča (slika 2).

Tok Na^+ v celico povzroči spremembo polarizacije plazmaleme in premik MP proti Nernstovemu potencialu za Na^+. Ta je močno pozitiven in membrana postane pozitivno polarizirana. Nekaj milisekund po aktivaciji Na^+-napetostno odvisni kanalčki prenehajo prevajati Na^+. To lastnost imenujemo inaktivacija Na^+-napetostno odvisnih kanalčkov. Zavoljo inaktivacije in ker je membrana zmeraj prevodna tudi za K^+, MP ne doseže Nernstovega potenciala za Na^+, temveč doseže vrh najpogosteje pri +20 mV. Inaktivacija Na^+-napetostno odvisnih kanalčkov ima za posledico zmanjšano prevodnost membrane za Na^+.



Slika 2: Mehanizem nastanka AP. Različni dražljaji (zgoraj) sprožijo tok ionov preko plazmaleme, kar povzroči spremembo v MP. Pražni dražljaj depolarizira membrano do pražne vrednosti in nastane AP (v sredini). Aktivirajo se Na^+-napetostno odvisni kanalčki in plazmalema se še bolj depolarizira. Ob tem se poveča prevodnost membrane za Na^+-ione (spodaj). Ker se Na^+-napetostno odvisni kanalčki hitro inaktivirajo, se prevodnost membrane za Na^+-ione kmalu ponovno zniža. Depolarizacija membrane povzroči tudi odprtje K^+-napetostno odvisnih kanalčkov, kar sproži repolarizacijsko fazo AP. Prevodnost membrane za K^+ ione se poveča. Zaradi počasnega zapiranja K^+-napetostno odvisnih kanalčkov postane v določenem trenutku MP bolj negativen od MMP, kar imenujemo hiperpolarizacija membrane.

Podobno kot Na^+-napetostno odvisni kanalčki se tudi K^+-napetostno odvisni kanalčki aktivirajo ob depolarizaciji membrane in prevodnost membrane za K^+ se poveča. Zaradi močno negativnih vrednosti Nernstovega potenciala za K^+ odprtje K^+-kanalov povzroči repolarizacijo membrane. V primerjavi z Na^+-napetostno odvisnimi kanalčki se K^+-napetostno odvisni kanalčki počasneje (odpirajo in) zapirajo. Iztok K^+-ionov iz celice tako traja dlje časa in MP v določenem trenutku postane bolj negativen od MMP (mirovnega membranskega potenciala). To imenujemo hiperpolarizacijska faza AP. Membrana ostane hiperpolarizirana tako dolgo, dokler je prevodnost za K^+ povečana. Čas trajanja hiperpolarizacije je odvisen od števila K^+-napetostno odvisnih kanalčkov in lahko traja tudi 100 ms, medtem ko je depolarizacija membrane zaradi hitrega odpiranja Na^+-kanalčkov zelo kratka in lahko traja 1–2 ms ali manj.

Med depolarizacijo se torej poveča prevodnost membrane za Na^+-ione. Ker je vrednost Nernstovega potenciala za ta ion pozitivna (okrog +60 mV), doseže MP pozitivne vrednosti. Med repolarizacijo se prevodnost za Na^+ zmanjša, poveča pa se prevodnost za K^+-ione. Med depolarizacijo obstaja neto tok Na^+-ionov v celico in med repolarizacijo neto tok K^+ iz celice. Tako bi se koncentracija Na^+-ionov v zunajceličnem prostoru sčasoma začela zniževati in znotraj celic zviševati in obratno velja za K^+-ione. Da se to ne zgodi in da koncentracije ionov na eni in drugi strani membrane na dolgi rok ostajajo praktično nespremenjene, poskrbijo Na^+-/K^+-črpalke, ki med AP in potem prehodno povečajo svojo dejavnost in vzdržujejo koncentracijski gradient ionov.

Vrednost *MP* med trajanjem AP lahko izračunamo, če poznamo koncentracije Na^+ in K^+ na obeh straneh membrane in če vemo, kako se spreminja prevodnost membrane za posamezne ione. Enačba, s katero lahko vrednost *MP* izračunamo, se imenuje Goldman-Hodgkin-Katzova (GHK) enačba in se glasi:

$$MP = \frac{N_{Na} \cdot p_{Na} + N_K \cdot p_K + N_i \cdot p_i}{p_{Na} + p_K + p_i} \quad (1).$$

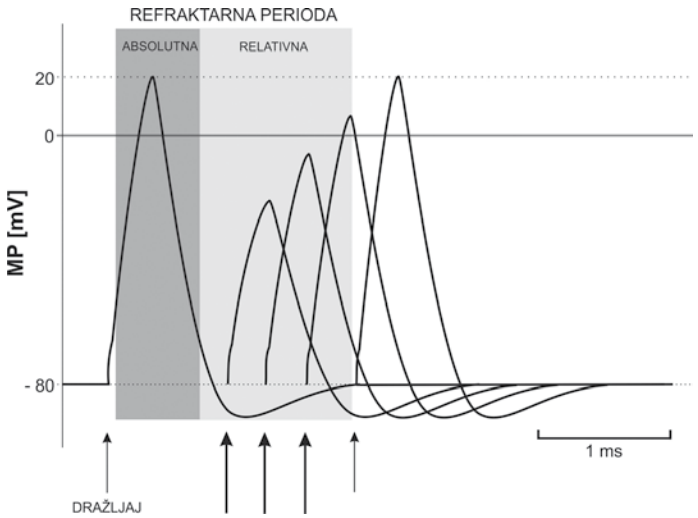
Omenjena enačba je bila podrobneje predstavljena v poglavju *Kako nastane Nernstov potencial* in *V čem se membranski potencial razlikuje od Nernstovega*. Na tem mestu zato zgolj spomnimo, da je MP-vrednost membranskega potenciala (razlika v električnem potencialu med znotraj- in zunajceličnim prostorom), N_{Na} in N_K ter N_i so vrednosti Nernstovih potencialov za ione Na^+, K^+ in ion *i* za katerega je membrana še morda prevodna, p_{Na} in p_K pa vrednosti prepustnosti membrane za ione Na^+ in K^+. Če je membrana prevodna še za kakšen drug ion (*i*), je treba upoštevati tudi prevodnost za ta ion (p_i).

Refraktarnost

Za vzdražne celice je pomembno, da so sposobne stalnega proženja AP. Kako pogosto lahko nastane AP v vzdražni celici, je odvisno od refraktarne periode (slika 3). Ko je celica refraktarna, ni sposobna proženja novega AP, ne glede na jakost dražljaja. Ta čas neodzivnega stanja imenujemo absolutna refraktarna perioda in je posledica inaktivacije Na^+-napetostno odvisnih kanalčkov. Dokler so kanali inaktivirani, jih ne moremo ponovno aktivirati. Za prehod kanalčkov iz stanja inaktivacije v pripravljenost na aktivacijo (odstranjevanje inaktivacije), v katerem se kanalčki lahko ponovno odprejo, je treba membrano repolarizirati do MMP ali celo hiperpolarizirati. Prehod se ne zgodi pri vseh kanalčkih hkrati, temveč se dogaja

postopoma. V absolutni refraktarni periodi tako ne moremo zagotoviti dovolj velikega deleža Na^+-napetostno odvisnih kanalčkov za aktivacijo, da bi sprožili nastanek novega AP.

Zaradi počasnega zapiranja K^+-napetostno odvisnih kanalčkov je nekaj milisekund po vrhu AP prevodnost membrane za K^+-ione povečana, kar povzroči hiperpolarizacijo plazmaleme. V tem času je za sprožitev novega AP potreben večji dražljaj, s katerim aktiviramo Na^+-napetostno odvisne kanalčke, pri katerih se je inaktivacija že odstranila. To obdobje imenujemo relativna rekfraktarna perioda. Čas trajanja relativne refraktarne periode je odvisen od števila K^+-napetostno odvisnih kanalčkov in tudi števila inaktiviranih Na^+-napetostno odvisnih kanalčkov.



Slika 3: Refraktarna perioda. Absolutna rafraktarna perioda je obdobje, ko novi AP ne more nastati. V relativni refraktarni periodi je za nastanek AP potreben dražljaj večje jakosti (večja puščica).

Viri in priporočena literatura

1 *Boron, W. F., Boulpaep, E. L. (2009). Medical physiology: a cellular and molecular approach, 2nd ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, cop.*

2 *Greger, R., Windhorst, U. (1996). Comprehensive human physiology: from cellular mechanisms to integration, Vol. 1. Berlin Heindelberg: Springer-Verlag, GmbH.*

3 *Hall, J.E. (2011). Guyton and Hall Textbook of medical physiology, 12th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier.*

4 *Purves, D. et al. (2004). Neuroscience, 3rd ed. Sunderland, MA: Sinauer Associates, Inc.*

5 *Stožer, A., Križančić Bombek, L., Dolenšek, J., Skelin, M. (2012). Izbrana poglavja iz fiziologije za študente medicine: z navodili za vaje, 1. izd. Maribor: Medicinska fakulteta.*

Učni list 1

Konstrukcija akcijskega potenciala

Skonstruirali bomo AP glede na v nalogi podane prevodnosti za Na^+ in K^+. V besedilu imate opisane spremembe prevodnosti, ki jih boste uporabili za konstruiranje AP. Za posamezne čase ($t = 0$ do $t = 7$) boste v preglednici izračunali vrednosti MP z uporabo GHK-enačbe. V mirovanju ($t = 0$), ko je potencial prek membrane enak MMP, je membrana v največji meri prevodna za K^+. Prevodnost membrane za Na^+ je minimalna. V času t_1 pražni dražljaj sproži tok ionov po celični membrani in membrana se postopoma depolarizira, dokler v času t_2 ne doseže vzdraženega praga, ki je za 20 mV manj negativen od MMP. Odprejo se Na^+-napetostno odvisni kanalčki. Prevodnost membrane za Na^+ se prehodno močno poveča. V času t_3 MP doseže vrh. Med depolarizacijo se odprejo tudi K^+-napetostno odvisni kanalčki, vendar je njihovo odpiranje počasnejše. Zelo hitro po aktivaciji se Na^+-napetostno odvisni kanalčki inaktivirajo in prevodnost membrane za Na^+ se ponovno zmanjša. Iztok K^+ iz celice membrano repolarizira (t_4). V času t_5 AP doseže fazo hiperpolarizacije. K^+-napetostno odvisni kanalčki ostanejo odprti dlje časa, njihovo zapiranje je počasnejše, zato se tudi prevodnost membrane za K^+ počasneje znižuje (t_6). V času t_7, ko se zaprejo še vsi K^+-napetostno odvisni kanalčki, je prevodnost membrane za K^+ enaka kot pred pojavom dražljaja.

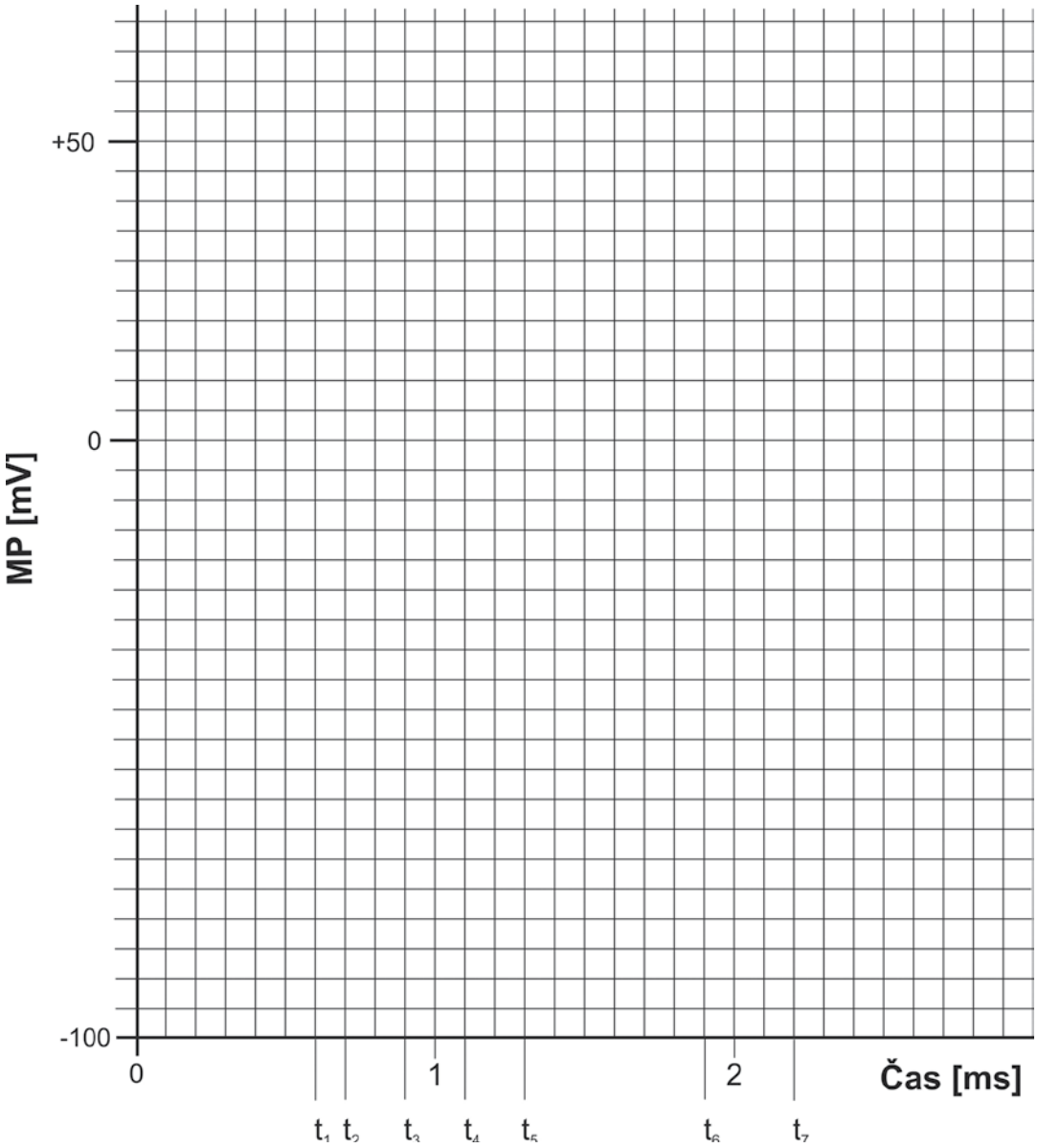
Preglednica 1: Prevodnosti membrane za Na^+ in K^+ v različnih fazah AP.

Čas		**Prevodnost membrane za Na^+**	**Prevodnost membrane za K^+**	**Vrednosti MP**
t_0	MMP	1	20	
t_1	Dražljaj	1	20	
t_2	Depolarizacija do vzdražnega praga	1	20	MMP + 20 mV
t_3	Vrh AP	100	30	
t_4	Repolarizacija	15	150	
t_5	Hiperpolarizacija 1	2	150	
t_6	Hiperpolarizacija 2	1	30	
t_7	MMP	1	20	

Zunaj celice je koncentracija Na^+ 142 mM, K^+ 4 mM. Znotraj celice je koncentracija Na^+ 14 mM, K^+ 140 mM[6].

1. Kakšen je MMP celice? Kako se vrednost MP spreminja med AP?
2. V graf na naslednji strani vnesite vrednosti ravnotežnega (Nernstovega) potenciala za Na^+ in K^+. Izračunajte vrednosti MP v času t_0 do t_7 in vrednosti vnesite v preglednico 1. Na priložen graf narišite spreminjajoče se vrednosti MP v času t_0 do t_7. Točke povežite z ravnimi črtami in dobili boste skonstruiran AP.

[6] *Iz podanih vrednosti lahko izračunamo vrednost ravnotežnega (Nernstovega) potenciala za posamezen ion po enačbi:* $N_x = -\frac{61{,}5\ mV}{z} \cdot \log\frac{C_{IC}}{C_{EC}}$, *pri čemer je z valenca iona,* C_{IC} *koncentracija ionov znotraj celice in* C_{EC} *koncentracija ionov zunaj celice. Za dodatno razlago glejte poglavje Električni pojavi v celici.*



Vprašanja v razmislek

- Kakšna je razlika med stopenjskim in akcijskim potencialom (AP)?
- Kakšen je mehanizem nastanka AP?
- Ali vsak dražljaj sproži nastanek AP?
- Kaj se zgodi s prevodnostjo membrane v času AP?
- Zakaj se membrana v času AP najprej depolarizira in nato repolarizira?
- Zakaj takoj po nastanku AP dodaten dražljaj ne more izzvati novega AP?
- Od česa je odvisno, kako pogosto lahko v celici nastane AP?

2.3.7 Delovanje nevronov in hitrost prevajanja po živcu

Dr. Maša Skelin Klemen, Inštitut za fiziologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Mariboru

Povzetek

Naloga aksonov je prenos impulzov na daljše razdalje. Širjenje informacije po živčnem vlaknu z akcijskim potencialom (AP), ki ima stalno obliko in amplitudo ter se na poti samookrepi, je tako najzanesljivejši način prenosa. Hitrost potovanja impulzov po živčnem vlaknu je odvisna od premera živčnega vlakna in obstoja mielinske ovojnice in je zato zelo spremenljiva. Z laboratorijskim vmesnikom Vernier lahko izmerimo čas trajanja pogačičnega refleksa in izračunamo hitrost potovanja informacije po živcu.

Trajanje

V obliki demonstracijske vaje: vsaj ena šolska ura.

V obliki poskusa po skupinah: vsaj dve šolski uri.

Povezava z biološkimi koncepti in cilji

- B – Raziskovanje in poskusi
  - B1 – Razumevanje fizioloških meritev in raziskav
- F – Zgradba in delovanje organizmov
  - F4 – Zgradba in delovanje človeka in drugih živali

    Dijaki poznajo osnovno zgradbo hrbtenjače in na primeru pogačičnega refleksa razumejo osnovni princip delovanja živčevja.
- Izbirni program – Vedenje živali

  Dijaki razumejo živčne mehanizme, ki vodijo reflekse, raztezni (pogačični) refleks in kožne reflekse.

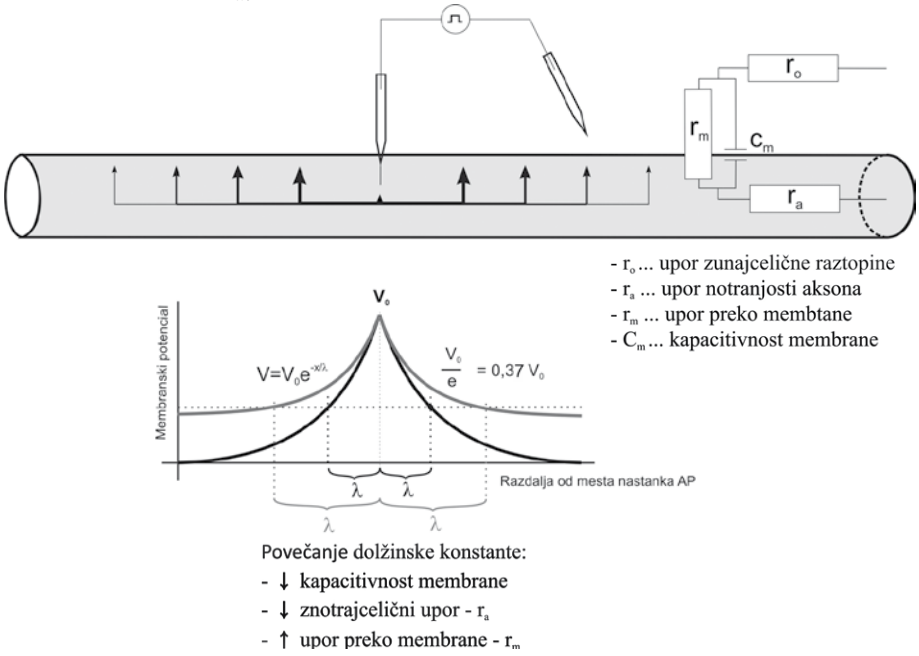
Medpredmetne povezave in potrebna predznanja drugih predmetov

- *fizika*: razumevanje delovanja senzorjev pospeška; razumevanje preprostih tokokrogov in stikal; razumevanje velikostnih razredov časovnih enot (milisekunde, sekunde);
- *matematika*: razumevanje prikaza časovnega poteka podatkov;
- *informatika*: razumevanje digitalizacije signala in računalniškega prikaza, obdelave in hrambe podatkov;
- *psihologija*: razumevanje organizacijskih ravni živčevja – od preprostih monosinaptičnih refleksov, do obdelave podatkov iz čutil v možganih in tvorbe zavestnega motoričnega odziva.

Uvod

Osnovna naloga aksonov je prenos impulzov na večje razdalje. Širjenje akcijskega potenciala (AP) po živčnem vlaknu vključuje širjenje depolarizacije vzdolž aksona. Lokalna sprememba membranskega potenciala (MP) se zgodi zaradi lokalnega toka ionov in se širi elektrotonično. Če lokalno MP preseže vzdražni prag, se na tem mestu sproži AP. Med depolarizacijsko fazo AP je tok ionov v celico dovolj velik, da elektrotonično depolarizira sosednji del membrane, kjer sproži nov AP. Prenos informacije vzdolž aksona se tako okrepi. Ker sta amplituda in oblika AP stalni, se informacija kodira s frekvenco proženja AP. Pri močnem dražljaju je na primer frekvenca proženja AP višja kot pri šibkem dražljaju.

Pri pasivnem odgovoru, ki ne izzove AP, je sprememba potenciala odvisna od razdalje, na kateri steče tok. Bližje kot je merilna elektroda mestu draženja, večja in hitrejša je sprememba MP na mestu merilne elektrode. Velikost spremembe MP eksponentno pada z razdaljo od mesta nastanka električnega toka. Pravimo, da se sprememba potenciala širi pasivno oz. elektrotonično. Takšne spremembe se ne širijo daleč po aksonu. Razdalja, v katerem sprememba potenciala pade do $1/e$ (37 %) od maksimalne vrednosti, se imenuje *dolžinska ali prostorska konstanta* λ**.** Črka *e* je osnova naravnega logaritma[7]. Dolžinska konstanta sesalskega aksona je odvisna od električnih lastnosti aksona in znaša tipično 0,1 – 3 mm. Kadar se električni tok prenaša vzdolž nemieliniziranega aksona, njegova plazmalema ni idealni izolator, ampak ima svojo prevodnost ($g_m = 1/r_m$), poleg tega plazmalema deluje tudi kot kondenzator (C_m).



Slika 1: Elektrotonično širjenje depolarizacije. Velikost spremembe MP vzdolž aksona eksponentno pada z razdaljo od mesta nastanka električnega toka. Dolžinska ali prostorska konstanta (l) je tista razdalja od mesta nastanka električnega toka, pri kateri vrednost potenciala pade na 37 % od maksimalne vrednosti (spodaj). V mieliniziranem aksonu, kjer je upor preko membrane večji, se l (siva črta) podaljša. Prav tako imajo daljšo l živčna vlakna z večjim premerom, saj je pri njih znotrajcelični upor manjši.

[7] $e \approx 2{,}72$

Signal, ki se širi vzdolž aksona, je odvisen od razmerja med upornostjo membrane (r_m) na eni strani ter upornostjo citoplazme aksona (aksoplazme aksona, r_a) in upornostjo zunajceličnega prostora na drugi strani (r_o):

$$\lambda = \sqrt{\frac{r_m}{r_a + r_o}} \quad (1).$$

Ker je upornost zunajceličnega prostora mnogo manjša od upornosti citoplazme aksona ($r_o \ll r_a$), lahko to zanemarimo:

$$\lambda = \sqrt{\frac{r_m}{r_a}} \quad (2).$$

Večje kot je razmerje r_m/r_a, manjša je izguba toka prek membrane na dolžinsko enoto aksona in boljše je delovanje aksona kot prevodnika. Dolžinska konstanta (λ) takšnega aksona je večja, signal se elektrotonično prenese na daljše razdalje in hitrost prenosa informacije je večja.

Katere so tiste lastnosti aksona, ki spremenijo bodisi upornost membrane bodisi upor v notranjosti aksona in tako vplivajo na dolžinsko konstanto ter s tem na hitrost prevajanja?

Hitrost prevajanja po živčnem vlaknu je odvisna od premera živčnega vlakna in obstoja mielinske ovojnice. Če želimo razumeti, kako premer živčnega vlakna vpliva na dolžinsko konstanto, moramo r_m in r_a izraziti v odvisnosti od premera živčnega vlakna:

$$r_a = \frac{R_a}{\pi a^2} \quad (3)$$

$$r_m = \frac{R_m}{2\pi a} \quad (4)$$

pri čemer je R_a specifična upornost aksoplazme, R_m specifična upornost membrane in a polmer živčnega vlakna.

Če v enačbi (2) upoštevamo enačbi (3) in (4), dobimo enačbo za dolžinsko konstanto (λ):

$$\lambda = \sqrt{\frac{\frac{R_m}{2\pi a}}{\frac{R_a}{\pi a^2}}} = \sqrt{\frac{aR_m}{2R_a}}$$

Iz enačbe (3) lahko razberemo, da z naraščanjem polmera vlakna r_a pada s kvadratom polmera, medtem ko r_m pada linearno s polmerom (enačba (4)). Upor citoplazme aksona z večjim premerom je torej veliko manjši, medtem ko je plazmalema le malo bolj prevodna, kar učinkovito poveča dolžinsko konstanto in s tem tudi hitrost prevajanja po živčnem vlaknu. AP se bo tako po živčnih vlaknih z večjim premerom elektrotonično prenesel na daljše razdalje.

Hitrost prevajanja impulza po živčnem vlaknu pa ni odvisna samo od premera živčnega vlakna, temveč tudi od mielinske ovojnice. Ta ovija živčno vlakno in ga s tem izolira. Pri tako izoliranih živčnih vlaknih je upor plazmaleme večji (r_m) in dolžinska konstanta živčnega vlakna se poveča. Mielinizirano živčno vlakno zato hitreje prevaja informacijo vzdolž aksona v primerjavi z nemieliniziranim živčnim vlaknom enakega premera, saj je hitrost prevajanja premo sorazmerna z dolžinsko konstanto živčnega vlakna.

Mielinsko ovojnico lahko sestavlja tudi 300 plasti membran nevroganglijskih celic. Zaradi mielinskega ovoja na membrani se aktivirajo le posamezni odseki na aksonu, kjer je mielinska ovojnica prekinjena. Te nekaj µm široke vrzeli, ki so razporejene na vsakih nekaj mm, imenujemo Ranvierovi zažetki. Do depolarizacije plazmaleme in nastanka AP pride tako le na Ranvierovih zažetkih, kjer je glavnina Na^+-napetostno odvisnih kanalov. Ta potencial se elektrotonično prevaja vzdolž aksona in tok ionov depolarizira membrano zažetka v naslednjem segmentu do vzdražnega praga in z nekaj zamika se tvori nov AP. Ker impulz preskakuje s segmenta na segment, imenujemo takšno prevajanje skokovito oz. saltatorno prevajanje. Skok oz. razdalja, na kateri potencial zamre, je daljši od razdalje med dvema Ranvierovima zažetkoma (doseže lahko celo tri Ranvierove zažetke). Zato se informacija vzdolž aksona prenaša s samookrepitvijo. Saltatorno prevajanje signala po aksonu je hitrejše od kontinuiranega in porabi manj energije, saj je glavnina Na^+/K^+ ATPaz v predelu Ranvierovih zažetkov. Prevajanje impulzov v mieliniziranem živčnem vlaknu lahko preseže celo hitrost 100 m/s, medtem ko v nemieliniziranih vlaknih majhnega premera ne doseže niti hitrosti 1 m/s. Periferne živce in mnogo živcev CŽS sestavlja skupina aksonov z različnim premerom, nekateri so mielinizirani, drugi ne. Posledično AP potuje v različnih aksonih z različnimi hitrostmi. Hitrost prevajanja po živcu navadno kaže hitrost prevajanja po najhitrejših vlaknih, npr. α-motonevronu (motorična živčna celica, ki nosijo informacijo iz centralnega živčevja proti periferiji do skeletnih mišic).

Priporočena gradiva in viri

1 *Boron, W. F., Boulpaep, E. L. (2009). Medical physiology: a cellular and molecular approach, 2nd ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, cop.*

2 *Greger R., Windhorst U. (1996). Comprehensive human physiology: from cellular mechanisms to integration, Vol. 1. Berlin Heindelberg: Springer-Verlag, GmbH.*

3 *Hall, J.E. (2011). Guyton and Hall Textbook of medical physiology, 12th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier.*

4 *Human physiology with Vernier; Neuromuscular reflexes 14A. Vernier Software & Technology. Dostopno na: www. Vernier.com (11. 3. 2013).*

5 *Purves, D. et al. (2004). Neuroscience, 3rd ed. Sunderland, MA: Sinauer Associates, Inc.*

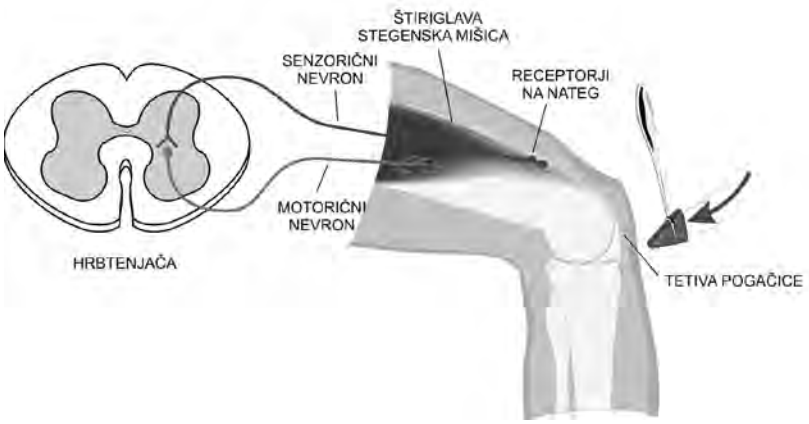
6 *Stožer, A., Križančić Bombek, L., Dolenšek, J., Skelin, M. (2012). Izbrana poglavja iz fiziologije za študente medicine: z navodili za vaje, 1. izd. Maribor: Medicinska fakulteta.*

7 *Shelton, J. and Kumar, G.P. (2010). »Comparison between auditory and visual simple reaction times«. Neuroscience & Medicine, Vol. 1, No. 1, pp. 30–32.*

Učni list 1

Dejavnost nevronov in hitrost prevajanja po živcu

Hitrost prevajanja po živcu lahko izmerimo s pomočjo enostavnega pogačičnega refleksa. Pogačični refleks je odziv na dražljaj, ki vzdraži senzorična živčna vlakna mišičnega vretena in povzroči krčenje štiriglave stegenske mišice. Pri omenjenem refleksu, ki spada med enostavne monosinaptične reflekse, informacija iz mišičnega vretena potuje po aferentnem živčnem vlaknu do hrbtenjače, kjer prek sinapse tvori povezavo z α-motonevronom, po katerem se informacija prenese do štiriglave stegenske mišice.



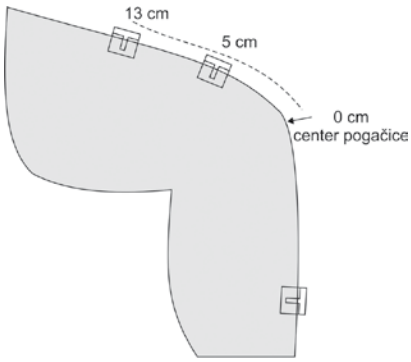
Slika 1: Pogačični refleks *(Preoblikovano po Human Physiology with Vernier)*

Pripomočki za merjenje hitrosti pogačičnega refleksa

- računalnik,
- Vernierjev računalniški vmesnik,
- računalniški program *Logger Pro*,
- Vernierjev EKG-senzor,
- 25-gramski Vernierjev merilnik pospeška,
- elektrode,
- refleksno kladivo,
- merilni trak (šiviljski meter).

Potek izvedbe

1. Vernierjev EKG-senzor in merilec pospeška priključimo v Vernierjev računalniški vmesnik.
2. V mapi *Human physiology with Vernier* odpremo datoteko »*14A Reflexes with ACC*«.
3. Priključite merilnik pospeška na refleksno kladivo tako, da električni vodnik gleda proti zadnji strani kladiva in nas tako ne ovira pri poskusu.
4. Testirana oseba naj sproščeno sedi na mizi ali stolu, ki je dovolj visok, da oseba z nogami ne seže do tal. Noga naj se prosto giblje nad tlemi.
5. Dve elektrodi nalepite testirani osebi nad koleno vzdolž štiriglave stegenske mišice, tretjo elektrodo pa na golen, kot prikazuje slika 2.



Slika 2: Postavitev elektrod (Preoblikovano po Human Physiology with Vernier)
Dve elektrodi namestimo v oddaljenosti 5 in 13 cm nad sredino pogačice. Tretjo elektrodo namestimo na golen.

6. Namestite rdeči in rumeni vodnik na elektrodi nad kolenom, pri čemer naj bo rdeči vodnik priključen na elektrodo, ki je bližje kolenu. Črni vodnik (ozemljitev) priključite na elektrodo na goleni.
7. Poiščite tetivo pogačice tako, da pod kolenom otipate ozko vez tkiva, ki je mehkejše od okoliškega kostnega tkiva in povezuje spodnji del pogačice z golenico. Mesto tetive označite s pisalom.
8. S pritiskom na »*Collect*« začnete zajemati podatke. Podatke brez dejavnosti zajemamo 5 s (črna na zaslonu mora ostati ravna), nato pritisnemo na »*Stop*«.
9. Nato začnemo testirati pogačični refleks. Testirana oseba mora imeti zaprte oči. Pritisnemo »*Collect*«. Po približno 5 s z refleksnim kladivcem udarimo na mesto, kjer je tetiva in smo ga prej označili. Če udarec ne izzove refleksa (iztegnitev noge v kolenu), poskusimo ponovno. Posnamemo 5–10 refleksov, nato snemanje ustavimo.
10. Določimo čas, v katerem smo z refleksnim kladivom udarili na tetivo (čas dražljaja), in čas, v katerem smo iztegnili koleno (čas refleksa). Podatke zapišemo v preglednico 1.

Preglednica 1: Za vsak posamezen refleks določimo čas dražljaja in čas odziva (refleksa) ter izračunamo srednjo vrednost podatkov.

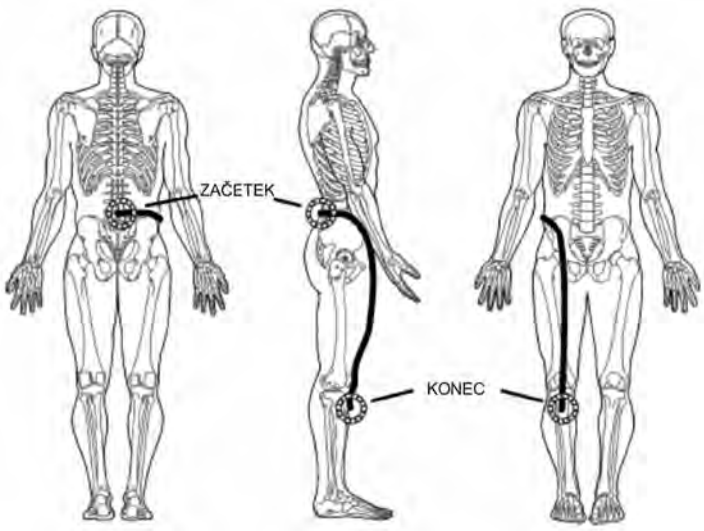
	Refleks 1	Refleks 2	Refleks 3	Refleks 4	Refleks 5	Srednja vrednost
Čas dražljaja t_d (s)						
Čas refleksa t_r (s)						
$\Delta t = t_r - t_d$ (s)						

Refleks je v normalnih razmerah nekoliko oslabljen zaradi nadzora možganov. Če se želimo izogniti inhibitornemu vplivu možganov na refleks, lahko preiskovanec svoje možgane zaposli s tem, da poskuša med meritvijo razkleniti dlani (izvede Jendrassikov manever: z veliko silo poskuša narazen povleči kavljasto spete prste obeh dlani).

S pomočjo tega enostavnega pogačičnega refleksa lahko izmerimo hitrost prevajanja po živcu. Omenjeni refleks spada med spinalne reflekse, kjer informacija potuje po aferentnih živčnih vlaknih do hrbtenjače in prek sinapse (brez vmesnih nevronov) tvori povezavo z

eferentnim živčnim vlaknom (α-motonevronom), po katerem se informacija prenese nazaj na mesto odziva (do štiriglave stegenske mišice).

Hitrost potovanja informacije po živcu lahko izračunamo tako, da prepotovano razdaljo *s* delimo s časom *t*, potrebnim za pot. Iz preglednice 1 dobimo čas *t*, pot *s* pa na testirani osebi izmerimo, kot prikazuje slika 3. Izmerjeno razdaljo pomnožimo z 2, da dobimo celotno pot, ki jo je prepotovala informacija (aferentni + eferentni del poti). Čas, ki je potreben za prenos prek sinapse med senzoričnim in motoričnim nevronom, je zelo kratek (~ 1 ms), zato ga lahko pri izračunu zanemarimo.



Slika 3: Pot impulza. Z merilnim trakom izmerimo razdaljo, ki jo je moral prepotovati impulz. (Slika je prirejena po *http://www.vernier.com/files/sample_labs/HP-A-14A-COMP-reflexes_with_acc.pdf*)

Vprašanja v razmislek

- Kako se širi informacija po živčnem vlaknu?
- Kakšna je razlika med elektrotoničnim širjenjem in skokovitim širjenjem depolarizacije?
- Kakšna je fiziološka vloga mielina pri širjenju AP po živcu?
- Kaj vpliva na hitrost prevajanja po živcu?
- Ali je hitrost prevajanja po živcu, ki ste jo izračunali na vaji, skladna s pričakovanji?
- Kakšna bi bila izračunana hitrost prevajanja po živcu, če bi namesto pogačičnega refleksa uporabili zavestno aktivacijo štiriglave stegenske mišice? Ali v tem primeru izračunana hitrost res odraža samo potovanje informacije po živcu?

2.3.8 Kako hitri so naši reakcijski časi?

Dr. Maša Skelin Klemen, Inštitut za fiziologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Mariboru

Povzetek

Reakcijski čas je čas od pojava dražljaja do reakcije organizma na dražljaj. Reakcijski časi se med različnimi ljudmi močno razlikujejo. Ko se ljudje naučimo nekaj predvidevati, se naš reakcijski čas praviloma skrajša. Zahtevnost naloge reakcijski čas podaljša. Prav tako imajo ljudje podaljšane reakcijske čase ponoči in zgodaj zjutraj. Daljši reakcijski čas od pričakovanega nam pove, da človek na dražljaj ni pozoren. S pomočjo preprostega testa z ravnilom in računalniškega programa Inquisist 4 si bomo pogledali, kakšni so naši reakcijski časi na slušne ali vidne dražljaje oz. na dražljaje dotika.

Trajanje

V obliki poskusa po skupinah dijakov: najmanj dve šolski uri

Povezava z biološkimi koncepti in cilji

F4-70, F4-76, F4-77, F4-79, P1-P10 in P-11-P17

Medpredmetne povezave in potrebna predznanja drugih predmetov

- *fizika, matematika, informatika*

Teoretično vsebinska izhodišča

Dražljaj iz okolice vzdraži senzorične receptorje, ki prenesejo informacijo do centralnega živčnega sistema (CŽS), kjer se informacija obdela. Sledi odgovor organizma na dražljaj, ki je odvisen od tega, kakšen učinek ima dražljaj v organizmu.

CŽS lahko analizira dražljaj, ki prenaša senzorično informacijo, le če je ta ustrezno kodirana. Način kodiranja informacije je odvisen od tega, kateri senzorični receptorji so aktivirani, kako se odzovejo na dražljaj in kako poteka procesiranje informacije v senzorični poti. Intenziteta dražljaja je lahko kodirana s časovno sinhronizacijo proženja AP ali s številom senzoričnih receptorjev, ki jih aktivira dražljaj. Šibek dražljaj lahko aktivira le enega ali malo aferentnih nevronov, medtem ko močan dražljaj iste vrste vzdraži veliko receptorjev in posledično nevronov. Dražljaji različnih intenzitet lahko sprožijo tudi različne vrste senzoričnih receptorjev. Šibek mehanični dražljaj lahko na primer spodbudi samo mehanoreceptorje, medtem ko močan mehanični dražljaj sproži tako mehanoreceptorje kot nociceptorje (receptorje za bolečino). Frekvenca dražljaja je lahko kodirana s številom AP ali s frekvenco proženja AP. Trajanje dražljaja je lahko kodirano z vzorcem proženja AP ali s trajanjem proženja AP, kadar gre za nevrone s počasno prilagoditvijo. Prostorska lokacija dražljaja pa se navezuje na aktivacijo določene populacije senzoričnih nevronov, katerih receptivna polja so spodbujena z dražljajem.

Start tekača s sprinterskega bloka je klasičen primer situacije »dražljaj-odziv«, ko človek zazna dražljaj in se nanj odzove. V tej situaciji obstajata dva glavna dejavnika:

- *Reakcijski čas* - čas zakasnitve, to je čas od pojava dražljaja do našega odziva nanj. Zakasnitev med trenutkom zaznave signala in odzivom ustreza času, v katerem aferentni signal doseže možgane in ti pošljejo eferentni signal v tarčni organ, npr. v mišice ob startu s startnega bloka.
- *Učenje* - pridobivanje znanj/sposobnosti, ki se pojavijo zaradi izkušenj. Z učenjem lahko posamezne korake znotraj reakcijske poti skrajšamo.

Reakcijski časi se med ljudmi in dogodki razlikujejo. Ko se ljudje naučimo nekaj predvidevati, se naš reakcijski čas praviloma skrajša. Zahtevnost naloge reakcijski čas podaljša. Prav tako imajo ljudje podaljšane reakcijske čase ponoči in zgodaj zjutraj, pa tudi ob alkoholnem opoju. Daljši reakcijski čas od pričakovanega nam pove, da človek na dražljaj ni pozoren. Ob proučevanju preprostih reakcijskih časov dobimo vpogled v kognitivno in nevrološko delovanje ljudi, ko izvajajo naloge.

V tej vaji si bomo pogledali, kako hitro in enostavno se ljudje učimo. Dražljaje bomo testirani osebi predstavili v naključnih intervalih, pri katerih traja dlje, da se reakcijski časi skrajšajo. Hkrati je skrajšanje reakcijskega časa manjše, kot če bi osebo testirali s fiksnimi intervali.

Metode ugotavljanja reakcijskega časa

Reakcijske čase lahko izmerimo na različne načine. V nadaljevanju je prikazan primer merjenja reakcijskih časov s pomočjo računalniškega programa, ki nam sam izračuna reakcijski čas vidnega ali slušnega dražljaja. V tretji nalogi reakcijski čas izmerimo s pomočjo padajočega ravnila. Vsi načini merjenja reakcijskih časov zahtevajo zbranost testirane osebe, zato sta za nemoteno izvajanje naloge potrebna mir in tišina v učilnici.

Priporočena literatura in viri

1 *Boron, W. F., Boulpaep, E. L. (2009). Medical physiology: a cellular and molecular approach, 2nd ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, cop.*

2 *Greger, R., Windhorst, U. (1996). Comprehensive human physiology: from cellular mechanisms to integration, Vol. 1. Berlin Heindelberg: Springer-Verlag, GmbH.*

3 *Hall, J. E. (2011). Guyton and Hall Textbook of medical physiology, 12th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier.*

4 *Human physiology with Vernier; Neuromuscular reflexes 14A. Vernier Software & Technology. Dostopno na: www. Vernier.com (11. 3. 2013).*

5 *Purves, D. et al. (2004). Neuroscience, 3rd ed. Sunderland, MA: Sinauer Associates, Inc.*

6 *Stožer, A., Križančić Bombek, L., Dolenšek, J., Skelin, M. (2012). Izbrana poglavja iz fiziologije za študente medicine: z navodili za vaje, 1. izd. Maribor: Medicinska fakulteta.*

7 *Shelton, J., and Kumar, G. P. (2010). »Comparison between auditory and visual simple reaction times«. Neuroscience & Medicine, Vol. 1, No. 1, pp. 30–32.*

8 *Vičar, M., in sod. (2011). Posodobitev pouka v gimnazijski praksi. Biologija. Ljubljana: Zavod RS za šolstvo, str. 113–120.*

Učni list 1

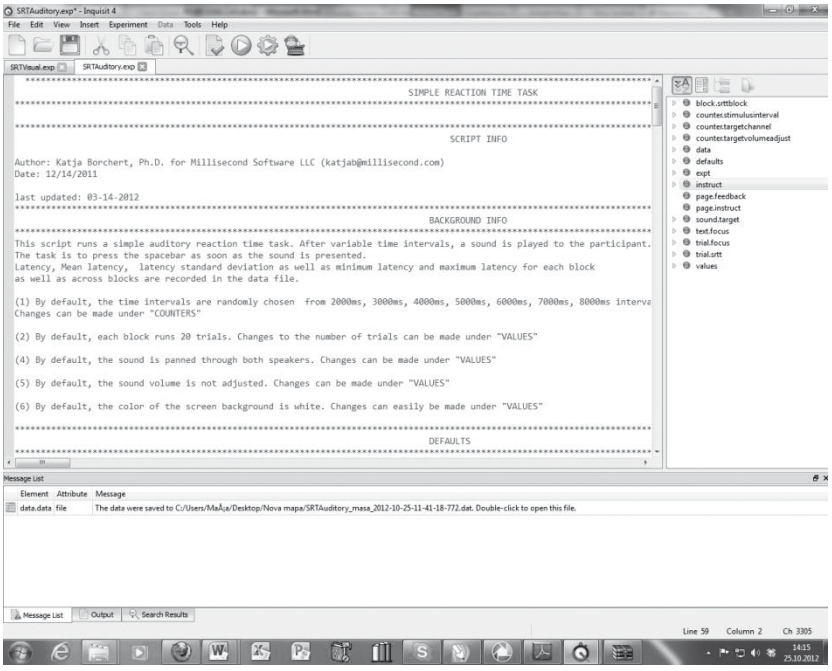
Merjenje slušnih reakcijskih časov

Pripomočki za merjenje slušnih (akustičnih) reakcijskih časov

- računalnik,
- računalniški program Inquisit 4,
- slušalke.

Potek izvedbe

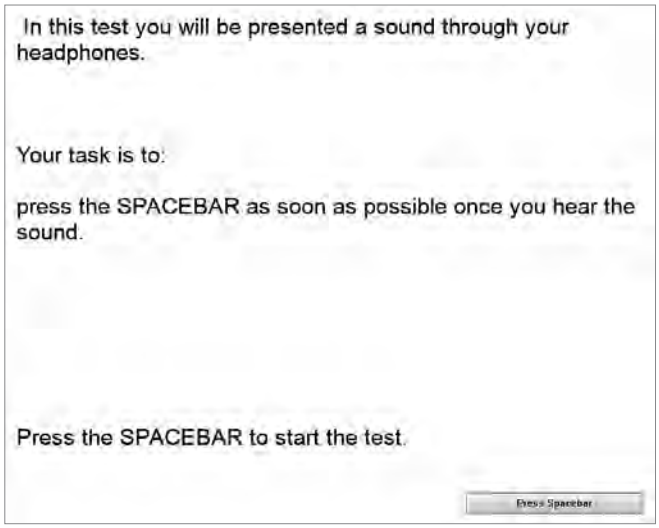
Akustične reakcijske čase lahko izmerimo s programom *Inquisit 4*, ki ga dobimo na spletni strani *http://www.millisecond.com/download/default.aspx*. Po namestitvi program zaženemo in odpre se nam okno, kot ga prikazuje slika 1.



Slika 1: Program Inquisit 4 za merjenje reakcijskih časov.

S pritiskom na tipko odpremo datoteko **SRTAuditory.exp**, ki smo jo prej prenesli na računalnik s spletne strani *http://www.millisecond.com/download/samples/v3/ SimpleReactionTime/*. Izvajanje programa zaženemo s tipko .

Prikazalo se nam bo okno, v katerega vnesemo ime testirane osebe in skupino. S pritiskom na tipko »*Run*« se začne testiranje. Najprej se nam na zaslonu pojavijo navodila za izvajanje poskusa, kot prikazuje slika 2.



Slika 2: Navodila za izvajanje poskusa za merjenje reakcijskih časov na slušne dražljaje.

Ko je testirana oseba pripravljena na začetek poskusa, pritisnemo tipko *presledek* in testiranje se bo začelo. Po dvajsetih dražljajih se bo prvi del testa končal in na zaslonu se nam bo izpisala srednja vrednost reakcijskih časov ter najkrajši in najdaljši reakcijski čas. Po kratkem premoru ponovno pritisnemo tipko *presledek* in začne se nova serija dvajsetih dražljajev. Po končanem testu nam bo program ustvaril datoteko, v kateri bodo zbrani vsi rezultati reakcijskih časov testirane osebe.

Testirana oseba lahko poskus izvede najprej z odprtimi, nato pa še z zaprtimi očmi. Na ta način lahko ugotovimo, kako drugi dražljaji v okolici vplivajo na koncentracijo in s tem na reakcijski čas.

Učni list 2

Merjenje vidnih reakcijskih časov

Pripomočki za merjenje vidnih (optičnih) reakcijskih časov

- računalnik,
- računalniški program *Inquisit 4*,
- slušalke.

Potek izvedbe

Tudi optične reakcijske čase lahko izmerimo s pomočjo programa *Inquisit 4*, ki smo ga uporabili že pri nalogi 1. Tokrat odpremo datoteko **SRTVisual.exp**, ki smo jo predtem prenesli na računalnik s spletne strani *http://www.millisecond.com/download/samples/v3/ SimpleReactionTime/*. Izvajanje programa zaženemo s tipko .

V okno vnesemo ime testirane osebe in pritisnemo tipko *»Run«*. Na zaslonu se nam prikažejo navodila, ki so podobna navodilom pri reakcijskih časih na slušne dražljaje, le da tukaj pritisnemo tipko *presledek*, ko se nam križec na zaslonu spremeni v rdečo piko.

Ko je testirana oseba pripravljena na začetek poskusa, pritisnetemo tipko *presledek* in testiranje se bo začelo. Po dvajsetih dražljajih se nam bo na ekranu izpisala srednja vrednost reakcijskih časov ter najkrajši in najdaljši reakcijski čas. Po kratkem premoru ponovno pritisnemo tipko *presledek* in začne se nova serija dvajsetih dražljajev. Po končanem testu nam bo program ustvaril datoteko, v kateri bodo zbrani vsi rezultati testirane osebe.

Testirana oseba lahko poskus nato izvede še tako, da si na ušesa nadene slušalke, kar bo zmanjšalo vpliv motečih dejavnikov iz okolice. Tako lahko ugotovimo, kako dražljaji v okolici vplivajo na zbranost in s tem na reakcijski čas.

Če na šoli nimate možnosti nakupa programa *Inquisit 4*, je na spletu na voljo kar nekaj brezplačnih programov, s katerimi lahko testirate reakcijske čase učencev v razredu. Nekatere programe najdete na spodnjih spletnih naslovih:
http://cognitivefun.net/test/16
http://cognitivelabs.com/mydna_speedtestno.htm
http://www.humanbenchmark.com/tests/reactiontime/index.php
http://www.mathsisfun.com/games/reaction-time.html

Meritev reakcijskih časov z vmesnikom Vernier je opisana tudi v priročniku Posodobitve pouka v gimnazijski praksi (Minka Vičar, ur. (2011); Ljubljana: Zavod RS za šolstvo).

Učni list 3

Merjenje reakcijskih časov na vidne dražljaje oz. na dražljaje dotika

Pripomočki za merjenje reakcijskih časov na vidne dražljaje ali dražljaje dotika

- ravnilo,
- računalo.

Potek izvedbe

Pri tej nalogi lahko dijaki izmerijo svoje reakcijske čase brez uporabe računalnika. Za izvedbo naloge potrebujejo zgolj ravno in dolgo ravnilo z merilno skalo dolžine vsaj 30 cm.

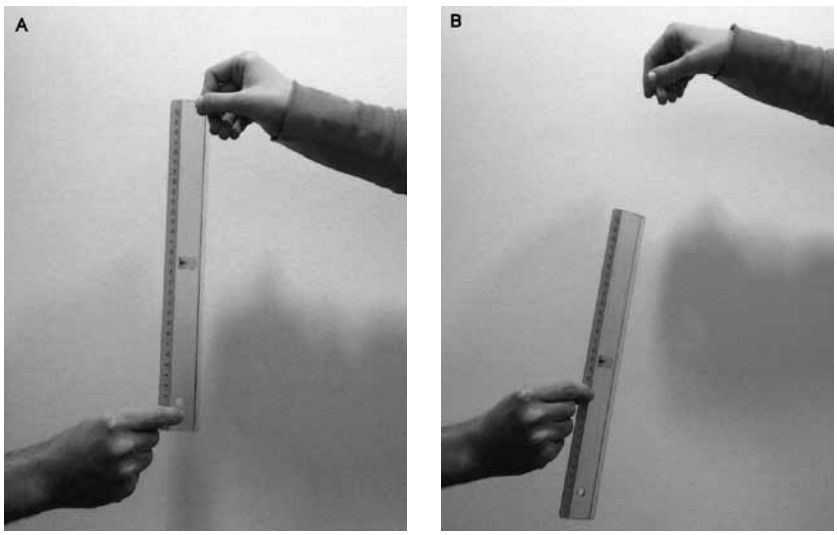
Testirana oseba naj sedi na stolu in svojo dominantno roko položi čez rob mize ali stola. S tem preprečimo, da bi testirana oseba padajoče ravnilo ustavila tako, da bi spustila roko pod nivo mize. Izvajalec testa stoji ob testirani osebi in v roki drži ravnilo, kot je prikazano na sliki 3A. Testirana oseba naj s palcem in kazalcem dominantne roke objame ravnilo z obeh strani, vendar naj se ravnila ne dotika. Prsta naj bosta 2 cm narazen na višini 0 cm. Izvajalec testa v naključnem trenutku spusti ravnilo. Testirana oseba naj kar najhitreje ustavi padec ravnila (slika 3B).

Na ravnilu odčitamo, za kakšno višino (v cm) je ravnilo padlo, preden ga je testirana oseba ujela. Iz izmerjene poti lahko izračunamo čas padanja ravnila in s tem reakcijski čas testirane osebe po enačbi:

$$t = \sqrt{\frac{2h}{g}} \qquad (5),$$

pri čemer je h razdalja v cm, ki jo ravnilo prepotuje, preden ga testirana oseba ustavi s prijemom, g je težni pospešek, ki znaša 9,81 m/s^2.

Meritev reakcijskih časov izvedemo pri posamezni testirani osebi vsaj 10-krat zapored. Najbolje je, če poskus z desetimi meritvami nato po kratkem premoru še enkrat ponovimo.



Slika 3: Merjenje reakcijskih časov s pomočjo ravnila. A) Izvajalec meritve drži ravnilo tako, da testirana oseba s palcem in kazalcem objame ravnilo na višini 0 cm, pri čemer se ravnila ne dotika. B) Izvajalec meritve brez napovedi spusti ravnilo. Testirana oseba kar najhitreje ustavi padec ravnila.

Izračunamo lahko reakcijske čase za posamezne dražljaje in povprečen reakcijski čas vseh dražljajev pri posamezni testirani osebi. Nato lahko primerjamo povprečne reakcijske čase pri vseh testiranih osebah v skupini.

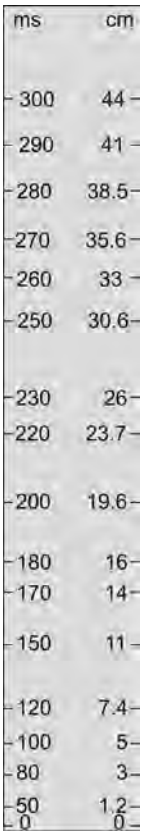
Kot zanimivost lahko poskusimo izmeriti reakcijske čase tako, da testirana oseba ravnilo ustavlja s svojo nedominantno roko (desničarji naj torej poskusijo z levico, levičarji pa z desnico). Primerjajte reakcijske čase med seboj.

Preglednica 1: Rezultati reakcijskih časov

Št. dražljaja	**Dominantna roka**		**Nedominantna roka**	
	Razdalja (cm)	Reakcijski čas (s)	Razdalja (cm)	Reakcijski čas (s)
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				
Povprečje				

S tem poskusom bomo dobili vpogled v reakcijske čase na vidne dražljaje. Z enakim poskusom lahko nato izmerimo še reakcijske čase osebe na dražljaje dotika. Ta poskus izvedemo tako, da ima testirana oseba pri izvajanju poskusa zaprte oči, s palcem pa se dotika ravnila. Ko izvajalec meritve spusti ravnilo, bo testirana oseba občutila gibanje ravnila in s prijemom ponovno kar najhitreje ustavila padajoče ravnilo. Primerjajte reakcijske čase na vidne dražljaje in dražljaje dotika.

Učenci si lahko enostavno merilo za merjenje reakcijskih časov izdelajo tudi sami. Iz kartona izrežejo približno 50 cm dolg in 5 cm širok trak. Nato lahko z enačbo 5 izračunajo razdaljo, ki jo v določenem času prepotuje ravnilo. Razdalje in pripadajoče vrednosti reakcijski časov učenci narišejo na merilo, kot prikazuje slika 4.



Slika 4: Enostavno merilo reakcijskih časov.
Način izvajanja naloge ostane enak. Reakcijske čase odčitamo iz izdelanega merila.

Vprašanja v razmislek

- Zakaj pride do zakasnitve v času med dražljajem in odzivom na dražljaj?
- Osebo testiramo z 10 dražljaji. Kakšne spremembe se pojavijo v vrednosti reakcijskih časov med 1 in 10 dražljajem?
- Kakšne razlike bi predvideli v reakcijskih časih in učenju med dominantno in nedominantno roko?
- Kateri reakcijski čas je krajši (optični ali akustični)? Zakaj? (Pri odgovoru na to vprašanje upoštevajte pot, ki jo prepotuje dražljaj in moteče dejavnike v okolici.)
- Kako se reakcijski časi spreminjajo z zahtevnostjo naloge?
- Kakšna je variabilnost podatkov pri zahtevnejši nalogi?
- Kako na reakcijski čas vpliva omamljenost npr. zaradi zaužitega alkohola?

2.3.9 Kako merimo električno delovanje srca?

Asist. dr. Andraž Stožer, dr. med., Inštitut za fiziologijo,
Medicinska fakulteta, Univerza v Mariboru

Povzetek

Vaja predstavlja praktično uporabo razumevanja električnih pojavov na ravni celice in njeno nadgradnjo na raven tkiva oziroma organa. Tako mentorju in dijaku odpira vrata do kvantitativnega razumevanja koncepta sistemske biologije, katere glavna ugotovitev je, da pojavov na ravni organov ne moremo razumeti brez znanja o bistvu temeljnih pojavov na ravni celice, a hkrati tudi ne samo z njimi. Mišične celice v srcu in srce kot celota se med električnim vzdraženjem, ki ritmično potuje prek srca, obnašajo kot električni dipoli. Zelo pomembna lastnost električnega dipola je, da povzroča v točkah v svoji okolici električno polje oziroma določeno vrednost električnega potenciala v vsaki točki. Med pari točk zato lahko izmerimo v času periodično spreminjajočo se razliko v električnem potencialu oziroma napetost in iz nje sklepamo na delovanje srca. Tovrsten zapis električne dejavnosti srca imenujemo elektrokardiogram. V tej vaji bomo podrobno spoznali električno dejavnost v srcu, posneli elektrokardiogram in iz njega sklepali na delovanje srca.

Trajanje

V obliki uvodne teoretične obravnave in meritve: dve uri.

Povezava z biološkimi koncepti in cilji

Električni pojavi v celici, membranski potencial, akcijski potencial, električna os srca; povezava med električno dejavnostjo kardiomiocita in srca kot celote in predstavitev, kako ta določa napetost med točkama v njegovi okolici, to je srečanje s konceptom zunajceličnega zaznavanja električnih pojavov.

F4/52.

Procesni cilji: P1, P2, P3, P11-P17

Medpredmetne povezave in potrebna predznanja drugih predmetov

- *matematika* – vektorji;
- *fizika* – elektrostatika, električno polje, električni dipol, električna napetost.

Pred to vajo naj se izvedeta vaji Kako nastane Nernstov potencial in Kako se memebranski potencial razlikuje od Nernstovega?

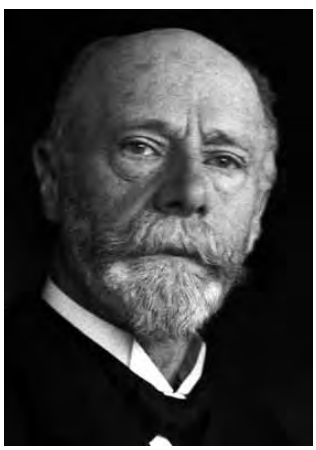
Teoretična vsebinska izhodišča

Elektrokardiogram (EKG) je grafični prikaz električne dejavnosti v srcu. Električno dejavnost v srcu pa si želimo ogledati oziroma jo opazovati zato, ker nam veliko

pove o zdravju srca in s tem o zdravju človeka. Električna dejavnost srčnomišičnih celic (kardiomiocitov) ustvarja v okolici srca električno polje, ki se s časom spreminja, s tem pa v vsaki točki tega polja v vsakem trenutku obstaja določena vrednost električnega potenciala. Če v dveh točkah v okolici srca vladata različni vrednosti električnega potenciala, pravimo tudi, da med tema točkama obstaja električna napetost. Pri meritvah električne dejavnosti srca točki, med katerima merimo spreminjanje napetosti v odvisnosti od časa, določimo tako, da vanju položimo elektrodi, ki se dotikata površine telesa. Spreminjanje napetosti med točkama je periodično, s periodo, ki je v normalnih razmerah enaka periodi mehanske črpalne aktivnosti srca. Pri srčni frekvenci v mirovanju med 60 in 100 utripi na minuto je ta perioda 0,6 do 1 sekunde. Trajanje in amplituda posameznih odsekov periodičnega EKG-zapisa prikazujeta in dovoljujeta oceno električne dejavnosti srca, iz te pa lahko sklepamo o delovanju tega organa.

V tem poglavju bomo opredelili električni dipol in pokazali izraz za napetost med dvema točkama v okolici dipola. Nato bomo razložili, zakaj KMC deluje kot električni dipol, in spoznali, da tudi srce kot celota iz številnih KMC deluje kot električni dipol, in ta dipol poimenovali integralni dipol. Končno bomo spoznali, da je periodično spreminjanje napetosti med dvema točkama s časom posledica po ustaljenih poteh in v enakomernih časovnih presledkih skozi srce razširjajoče se depolarizacije. Spoznali bomo odnos med depolarizacijo določenega dela srca in ustrezajočimi odseki EKG-zapisa.

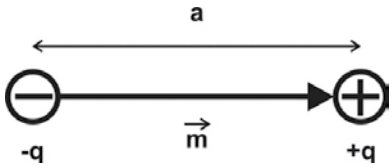
Metodo zajemanja električnih signalov srca je na prehodu iz devetnajstega v dvajseto stoletje razvil nizozemski zdravnik in elektrofiziolog Willem Einthoven, ki je skonstruiral strunski galvanometer. Ta je prvi omogočil zapisovanje električne dejavnosti srca prek odklonov strune galvanometra ob potovanju toka skoznjo z dovolj veliko prostorsko in časovno ločljivostjo. Einthoven je tudi predlagal način postavitve parov elektrod ali t. i. odvode in predlagal poimenovanje posameznih odklonov v EKG-zapisu ter pokazal na njihov klinični pomen. Za svoje delo je leta 1924 prejel Nobelovo nagrado za medicino ali fiziologijo.



Slika 1: Willem Einthoven (1860–1927) (Vir: Wikipedia)

1 Električni dipol

Električni dipol je par električnih nabojev iste velikosti in nasprotnega predznaka ($+q$ in $-q$), ki se nahajata na medsebojni razdalji a (slika 2).



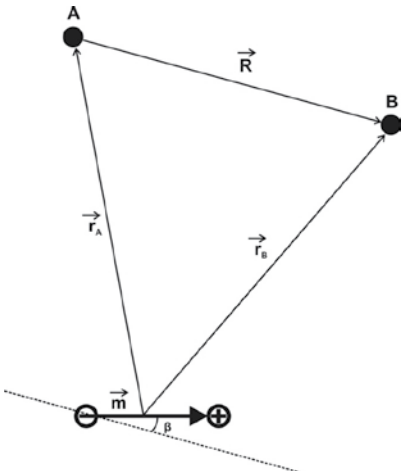
Slika 2: Opredelitev električnega dipola.

Električni dipol opišemo z vektorjem električnega dipola $\vec{m}$, katerega velikost je enaka produktu naboja in razdalje, njegova smer pa poteka od negativnega proti pozitivnemu naboju:

$$\vec{m} = q \cdot \vec{a} \qquad (1).$$

Če v okolico dipola $\vec{m}$ postavimo točki *A* in *B*, ki sta obe oddaljeni za razdaljo *r* od električnega dipola $\vec{m}$, lahko med točkama izmerimo razliko v električnem potencialu, ki znaša (slika 3):

$$\Delta\varphi(\vec{r}_B, \vec{r}_A) = \frac{\vec{m}\cdot\vec{r}_B}{4\cdot\pi\cdot\varepsilon_0\cdot r^3} - \frac{\vec{m}\cdot\vec{r}_A}{4\cdot\pi\cdot\varepsilon_0\cdot r^3} = \frac{\vec{m}\cdot(\vec{r}_B - \vec{r}_A)}{4\cdot\pi\cdot\varepsilon_0\cdot r^3} \qquad (2).$$



Slika 3: Skica k izračunu razlike v električnem potencialu med točkama B in A v okolici dipola.

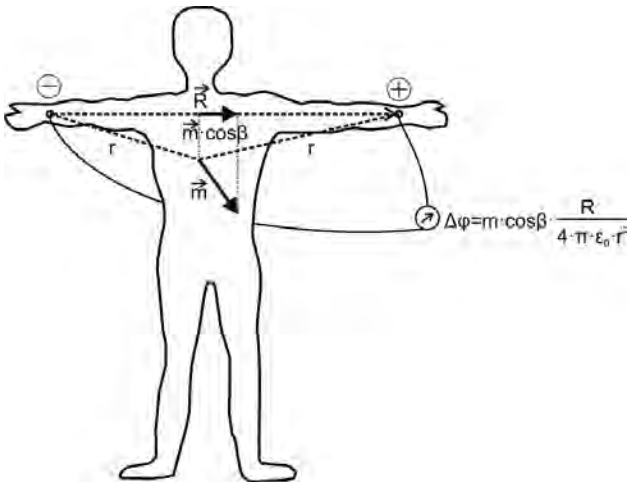
Če velja $\vec{r}_B - \vec{r}_A = \vec{R}$, in če je β kot med vektorjem dipola in krajevnim vektorjem $\vec{R}$ (ki je razlika med krajevnima vektorjema, ki potekata do točk B in A), potem velja:

$$\Delta\varphi = \frac{\vec{m}\cdot\vec{R}}{4\cdot\pi\cdot\varepsilon_0\cdot r^3} = \frac{m\cdot R\cdot\cos\beta}{4\cdot\pi\cdot\varepsilon_0\cdot r^3} \qquad (3).$$

Razlika potencialov (napetost) med točkama *A* in *B* je torej sorazmerna pravokotni projekciji vektorja $\vec{m}$ na vektor $\vec{R}$ (ker je v številu člen $m \cdot cos\beta$). Ta ugotovitev je najpomembnejša za razumevanje narave EKG-zapisa.

Med srčnim ciklom se namreč srce obnaša kot dipol oziroma kot vektor (imenujemo ga integralni vektor), katerega velikost in smer ocenjujemo s pari elektrod

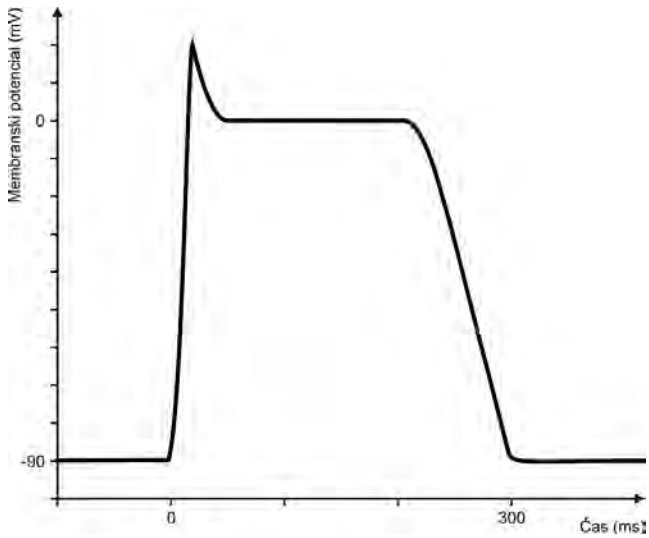
na površini telesa. Velikost napetosti med vsakim parom elektrod je neposredno sorazmerna pravokotni projekciji integralnega vektorja na zveznico med elektrodama v danem paru (slika 4).



Slika 4: Srce kot celota deluje kot integralni vektor $\vec{m}$. Velikost napetosti, izmerjene med elektrodama (znaka – in +), ki ju povezuje vektor $\vec{R}$, je sorazmerna pravokotni projekciji vektorja $\vec{m}$ na vektor $\vec{R}$. Če projicirani vektor $\vec{m} \cdot cos\beta$ kaže v isto smer kot vektor $\vec{R}$, je izmerjena napetost pozitivna. Če kaže v nasprotni smeri, je izmerjena napetost negativna. Črka »r« v imenovalcu označuje oddaljenost integralnega dipola $\vec{m}$ od ene in druge elektrode, ε_0 je dielektrična konstanta.

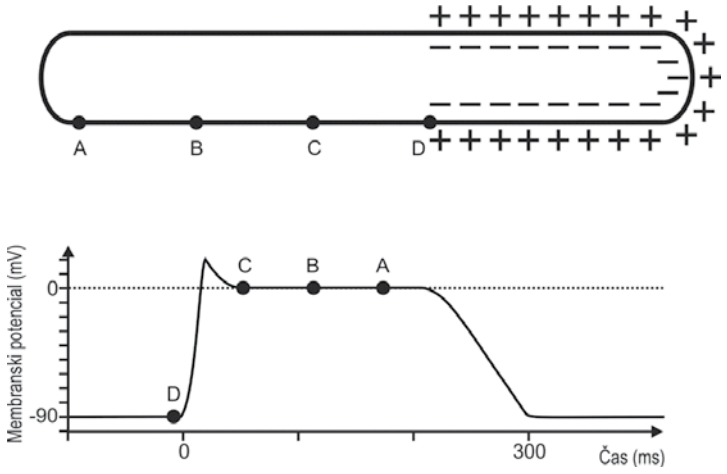
2 Akcijski potencial kardiomiocita

Da bi razumeli, zakaj srce deluje kot električni dipol, moramo spoznati akcijski potencial kardiomiocita. Ta je med vsemi električno vzdražnimi celicami v telesu precej edinstven, saj traja izjemno dolgo, približno 100-krat dlje od akcijskega potenciala v nevronih, in sicer približno tretjino sekunde ali 300 milisekund. Za nas najpomembnejša lastnost akcijskega potenciala kardiomiocitov je, da po depolarizaciji ne pride takoj do repolarizacije, ampak kardiomiocit ostane dolgo depolariziran pri vrednostih membranskega potenciala blizu 0 mV.



Slika 5: Akcijski potencial kardiomiocita. Akcijski potencial traja zelo dolgo zaradi platoja pri vrednosti membranskega potenciala približno 0 mV.

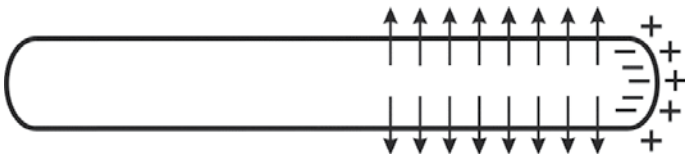
Zaradi te ključne lastnosti se zgodi, da je med postopno depolarizacijo kardiomiocita velik del membrane depolariziran do praktično enake vrednosti, to je približno 0 mV. Na sliki 6 vidimo KMC, katerega levi konec se je depolariziral kot prvi, nato pa se je depolarizacija širila proti desni strani. To pomeni, da se je najprej depolariziral del membrane, označen z A, nato tisti, označen z B, in nazadnje tisti, označen s C. Točka D je tik pred tem, da se depolarizira. Na spodnjem delu slike so točke označene na poteku akcijskega potenciala. V trenutku, ko opazujemo KMC, se zaradi dolgega trajanja platoja vse tri točke, A, B in C, nahajajo pri enaki vrednosti membranskega potenciala.



Slika 6: Depolarizacija kardiomiocita. Membrana kardiomiocita se depolarizira v smeri od točke A proti točki D. Spodaj so točke A do D vrisane v potek akcijskega potenciala.

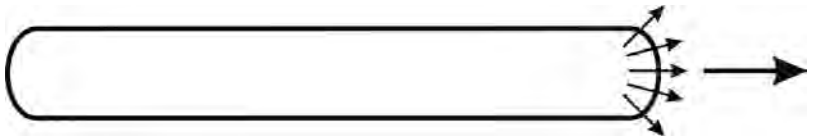
3 Kardiomiocit kot električni dipol

Na depolariziranem delu ni parov nabojev, na delu, ki še ni depolariziran, pa so številni pari nabojev v skladu z vrednostjo membranskega potenciala na tem delu membrane (–90 mV). To pomeni, da so na tem delu v zunanjosti pozitivni, v notranjosti pa negativni naboji. Vsak par nabojev deluje kot majhen električni dipol. Zgoraj in spodaj vzdolž membrane ležeči pari nabojev na sliki 7 so orientirani tako, da se dipoli, ki zaradi njih nastanejo, vektorsko med seboj odštejejo. Z drugimi besedami, zgoraj na membrani ležeči pari nabojev ustvarjajo dipole, ki so usmerjeni navzgor, spodaj ležeči pa takšne, ki so usmerjeni navzdol (slika 7).



Slika 7: Medsebojno odštevanje dipolov vzdolž kardiomiocita. Dipoli vzdolž membrane se odštejejo med seboj. Tisti na desnem polu kardiomiocita se seštejejo v skupen dipol, ki predstavlja prispevek tega kardiomiocita k tako imenovanemu integralnemu dipolu.

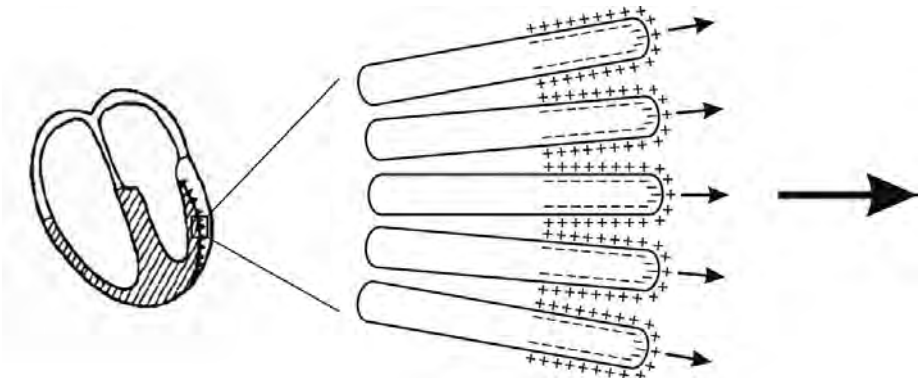
Na skrajnem desnem koncu kardiomiocita ležeči pari nabojev pa se seštejejo v dipol, ki predstavlja prispevek tega kardiomiocita k skupnemu dipolu srca kot celote, to je k integralnemu dipolu (slika 8).



Slika 8: Seštevanje dipolov na nedepolariziranem polu kardiomiocita. Dipoli vzdolž membrane so se odšteli med seboj. Tisti na desnem polu kardiomiocita se seštejejo v skupen prispevek tega kardiomiocita.

4 Srce kot električni dipol

V srcu so vsi kardiomiociti povezani s presledkovnini stiki, in če se depolarizira en sam kardiomiocit, se depolarizacija razširi prek vseh preostalih. Med depolarizacijo je v srcu v vsakem trenutku več delno depolariziranih kardiomiocitov, takšnih, kakršen je upodobljen na slikah 6–8. Slika 9 prikazuje srce v obdobju depolarizacije stene levega prekata. Povečano je prikazanih pet kardiomiocitov, ki vsak prispeva svoj dipol k skupnemu dipolu, prikazanemu na skrajni desni strani slike. Ta dipol imenujemo tudi integralni dipol.



Slika 9: Srce kot celota deluje kot električni dipol. Med depolarizacijo je v vsakem trenutku depolariziranih več kardiomiocitov. Vsak od njih prispeva svoj dipolni vektorski prispevek k integralnemu vektorju srca kot celote.

V trenutku, ki ga prikazuje slika 9, je integralni dipol vodoraven in kaže v levo (glede na človeka, ki mu snemamo EKG, in obratno, glede na bralca) oziroma od negativne proti pozitivni elektrodi. Napetost, ki jo izmerimo med obema rokama, je zato pozitivna.

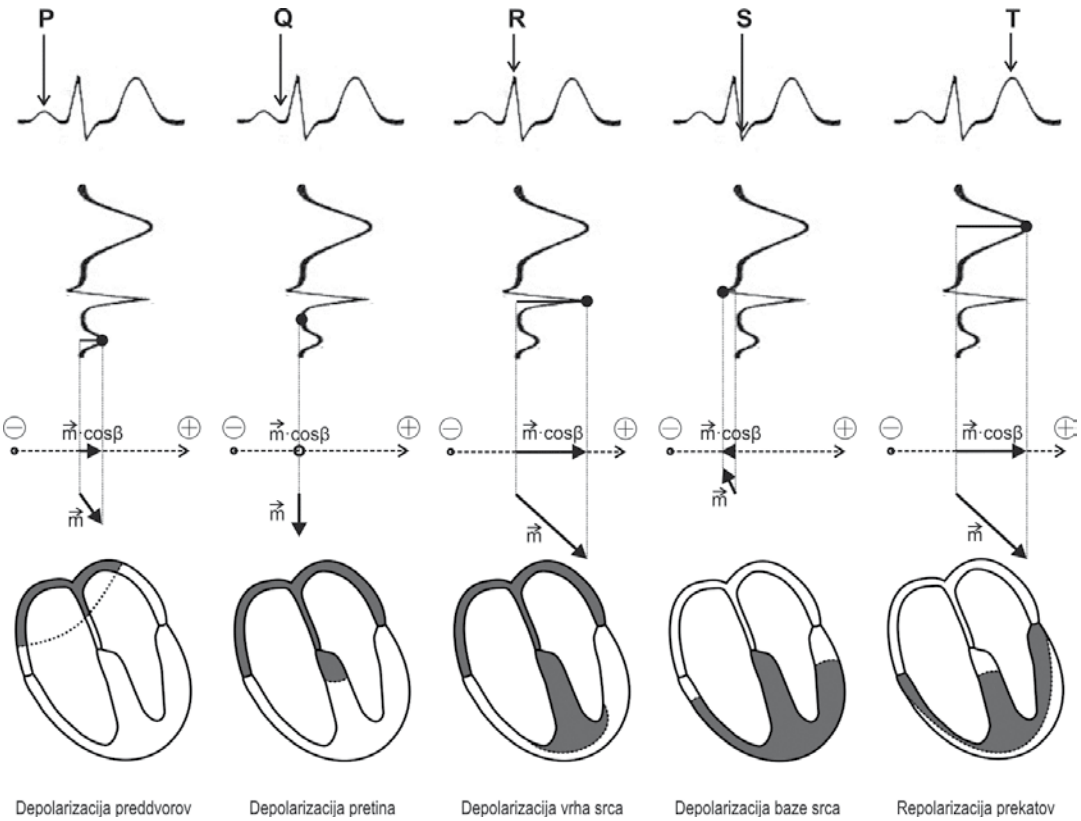
5 Odkloni v elektrokardiogramu

Depolarizacija srca se začne v desnem preddvoru v skupini posebnih kardiomiocitov, ki jim pravimo s skupnim imenom sinuatrialni vozel in katerih ključna lastnost je, da se sami po sebi depolarizirajo do praga za začetek akcijskega potenciala, zaradi česar srce lahko bije, tudi če prekinemo vse živčne povezave. Zaradi tega celicam sinuatrialnega vozla pravimo tudi ritmovniške celice, lastnosti srca, da bije brez zunanje živčne stimulacije, pa avtonomnost bitja srca.

Od sinuatrialnega vozla se depolarizacija širi prek preddvorov (atrijev) v smeri levo in navzdol proti prekatoma (ventrikloma), se prenese na prekata prek majhne odprtine v vezivni pregradi med preddvoroma in prekatoma na medprekatni pretin,

po njem pa navzdol proti vrhu srca. Nazadnje se depolarizacija razširi skozi stene prekatov navzgor proti bazi srca (nazaj proti meji med preddvoroma in prekatoma) in tu se konča. Atrija se v času, ko depolarizacija doseže mejo med preddvoroma in prekatoma, že repolarizirata in bi se lahko ponovno vzdražila, vendar se depolarizacija ne more prenesti do preddvorov, ker vezivno tkivo med preddvoroma in prekatoma ni električno vzdražno. Po majhni odprtini, v kateri so električno vzdražne celice in prek katere se je depolarizacija razširila do prekatov, pa se depolarizacija ne more razširiti nazaj na preddvore, ker so celice v njej refraktarne.

Integralni vektor med depolarizacijo v vsakem trenutku kaže v smeri depolarizacije. Če spremljamo projekcijo tega vektorja na zveznico med elektrodama na obeh rokah, lahko zaznamo depolarizacije posameznih delov srca kot značilne odseke v zapisu napetosti med obema elektrodama, kot kaže slika 10.



Slika 10: Značilni odseki zapisa EKG. Med depolarizacijo preddvorov nastane val P, med depolarizacijo pretina med prekatoma zobec Q, med depolarizacijo vrha srca nastane zobec R, med depolarizacijo baze srca zobec S, med repolarizacijo pa val T.

Ostre odklone napetosti med elektrodama v EKG-zapisu imenujemo zobce, bolj gladke valove. Ravne odseke med zobci oziroma valovi pa segmenti. Intervali so sestavljeni iz zobcev oziroma valov in segmentov (glej sliko 12). Med depolarizacijo preddvorov nastane val P, med depolarizacijo pretina med prekatoma zobec Q, ki pa je izražen bolj ali manj. V primeru na sliki izrazitega zobca Q ni, ker je integralni vektor pravokoten na zveznico med elektrodama, kar pomeni, da je kosinus kota med integralnim vektorjem in krajevnim vektorjem med elektrodama enak 0. Med depolarizacijo vrha srca nastane izrazit zobec R, ker se takrat depolarizacija širi preko velikega števila kardiomiocitov in je integralni vektor zelo velik (dolg). Med

depolarizacijo baze srca se depolarizacija širi navzgor in v desno (glede na človeka, ki mu merimo EKG), zaradi česar je odklon v EKG-zapisu, imenovan zobec S, negativen. Najtežje razumljiva je repolarizacija srca. Repolarizacija preddvorov se zgodi med depolarizacijo pretinov in se ne vidi kot poseben odsek EKG-zapisa. Repolarizacija prekatov je v EKG-zapisu vidna kot enoten val T. Ta je pozitiven odklon (gleda v isto smer kot zobec R), zato ker se repolarizacija širi v nasprotni smeri od depolarizacije in nastanejo dipoli, ki so usmerjeni enako kot tisti med depolarizacijo. Če bi repolarizacija potekala v treh točno nasprotnih korakih od depolarizacije (baza–vrh–pretin), bi val T moral biti sestavljen iz treh delov. To se ne zgodi, ker se repolarizacija vseh treh delov začne praktično hkrati. Čas od konca depolarizacije atrijev do začetka depolarizacije prekatov (pretina) je segment PQ. V tem času depolarizacija potuje po ozkem prevodnem sistemu v vezivni pregradi med preddvoroma in prekatoma, imenovanem atrioventrikularni vozel s Hisovim snopom. Čas od začetka depolarizacije atrijev do začetka depolarizacije prekatov (pretina) je interval PQ. Zobce Q, R in S imenujemo tudi s skupnim imenom kompleks QRS. V tem času se depolarizirata prekata. Čas od konca zobca S do začetka vala T je segment QT. V tem času so vsi kardiomiociti depolarizirani. Čas od začetka zobca Q do konca vala T je interval QT. To je čas od začetka depolarizacije do konca repolarizacije prekatov.

Podaljšano trajanje intervalov kaže na to, da se depolarizacija širi počasneje kot normalno. Spremenjena oblika odsekov kaže na to, da se depolarizacija širi po drugačni poti od predstavljene. To se lahko zgodi zaradi odmrtja kardiomiocitov, ki je posledica pomanjkanja prekrvavitve (miokardni infarkt), ali zaradi presnovnih bolezni. Iz časa med zaporednimi zobci R lahko določimo frekvenco bitja srca. Pri tej vaji boš posnel EKG-zapis, poimenoval in pomeril njegove značilne odseke, jih povezal z depolarizacijo posameznih delov srca, določil srčno frekvenco in preučil vpliv zamenjave položaja elektrod na zapis.

Praktična vaja

Elektrokardiografski posnetek v I. standardnem odvodu po Einthovnu

Namen vaje

Pri tej vaji boš:

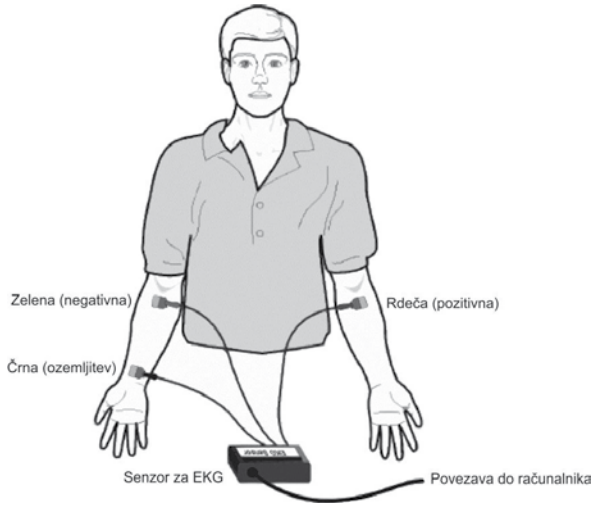
- posnel zapis električne dejavnosti srca prek določenega časovnega obdobja,
- prepoznal tipične valove, zobce in intervale normalnega elektrokardiografskega zapisa,
- te elemente povezal z električno dejavnostjo v posameznih delih srca,
- določil frekvenco utripanja srca s pomočjo razdalje med vrhovi zaporednih zobcev R,
- preučil vpliv postavitve elektrod na elektrokardiografski zapis.

Potrebščine

- računalnik
- Vernier
- program Logger Pro
- senzor za snemanje EKG
- samolepilne elektrode

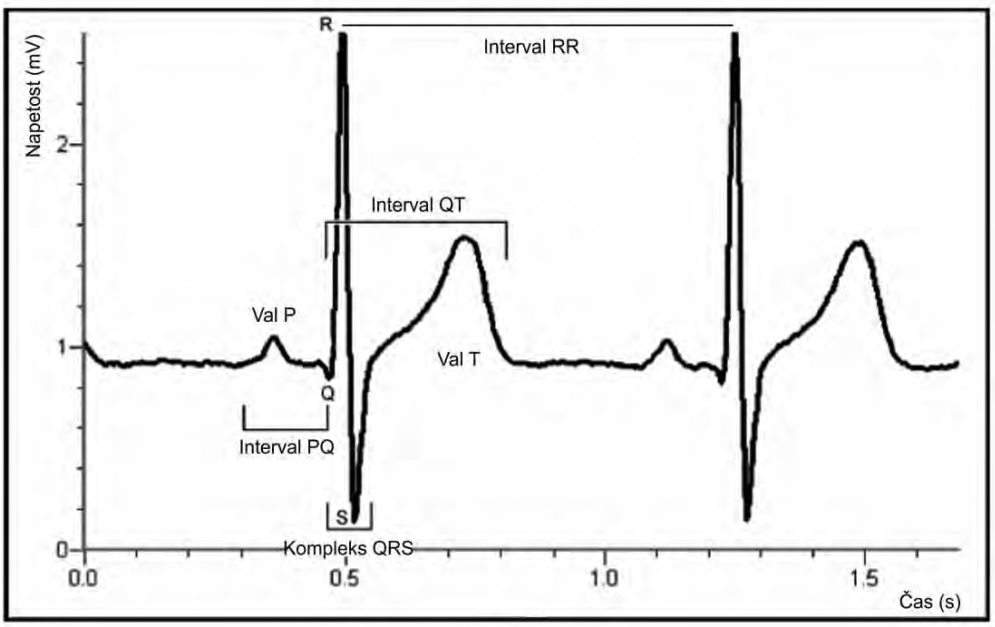
Postopek

1. Poveži senzor za snemanje EKG na Vernierja, odpri datoteko »*12 Analyzing Heart EKG*« v mapi »*Human Physiology with Vernier*«.
2. Samolepilne elektrode nalepi na roki, kot kaže slika 11. Po eno elektrodo nalepi na notranji strani desne podlakti tik nad zapestjem in tik pod komolcem ter na notranji strani leve podlakti tik pod komolcem.
3. Žice senzorja za EKG poveži s samolepilnimi elektrodami, kot kaže slika 11. Črna žica (ozemljitev) gre na samolepilno elektrodo nad zapestjem, zelena (negativna) elektroda na samolepilno elektrodo pod desnim komolcem in rdeča (pozitivna) žica na samolepilno elektrodo pod levim komolcem.



Slika 11: Postavitev samolepilnih elektrod in žic senzorja za EKG. (Vir: Priročnik za uporabo Vernierja)

4. Udobno se usedi na stol, tako da tvoji roki mirujeta položeni na stegna ali naslonjeni na naslonjalo za roke.
5. Ko si zavzel ta položaj, naj sošolec za začetek snemanja pritisne »*Collect*«.
6. Ko končaš snemanje, analiziraj posnetek, tako da s pritiskom in vlečenjem miške označiš ustrezne odseke, navedene v preglednici 1. Pri določitvi intervalov si pomagaj z oznakami na sliki 12. Trajanje z miško označenega odseka ti pokaže vrednost Δx v spodnjem levem kotu grafičnega zapisa. Preberi vrednost, jo zaokroži na 0,01 sekunde natančno in jo vnesi v preglednico 1. Amplitudo odseka ti pokaže vrednost Δy. Preberi vrednost, jo zaokroži na 0,01 mV natančno in jo vnesi v preglednico 1.
7. Nato zamenjaj negativno in pozitivno elektrodo, ponovi korak 4. Sošolec naj za ponoven začetek snemanja pritisne »*Collect*«. Oglej si dobljeni posnetek.



Slika 12: Vala, zobci in intervali EKG-zapisa. (Vir: Priročnik za uporabo Vernierja)

Legenda:

Interval PQ: čas od začetka vala P do začetka zobca Q. To je čas od začetka depolarizacije atrijev do začetka depolarizacije ventriklov na ravni medprekatnega pretina.

Kompleks QRS: čas od začetka zobca Q do konca zobca S. Ta čas ustreza širjenju depolarizacije od medprekatnega pretina do vrha prekatov in proti bazi.

Interval QT: Čas od začetka zobca Q do konca vala T. To je čas od začetka depolarizacije do konca repolarizacije kardiomiocitov. Ker v grobem velja, da se kardiomiociti, ki se depolarizirajo kot prvi, repolarizirajo kot zadnji, ta čas približno ustreza trajanju najdaljšega akcijskega potenciala v miokardu.

9. Izračunaj frekvenco utripanja srca, izraženo v utripih/minuto. Vrednost zaokroži na celo število in jo vnesi v preglednico 1. Pri tem za izračun uporabi povprečno vrednost intervala RR ($\overline{RR}$).
10. Posnetek shrani, tako da v meniju »*Experiment*« izbereš »*Store last run*«.

Preglednica 1: Izmerjeno trajanje intervalov, izračunana frekvenca utripanja srca in amplituda zobca R v I. odvodu.

Interval	Čas (s)
PQ	
QRS	
QT	
RR 1	
RR 2	
RR 3	
$\overline{RR}$	
Frekvenca utripanja srca	utripov/min
Amplituda zobca R	mV

Preglednica 2: Normalna trajanja intervalov in frekvence srca

Interval	Čas (s)
PQ	0,12-0,20
QRS	<0,12
QT	0,30-0,40
RR	0,60-1,0
Frekvenca utripanja srca	60-100 utripov/min

Analiza podatkov

Elektrokardiografski posnetek v I. standardnem odvodu po Einthovnu

1. Poteka depolarizacija ventriklov od leve proti desni ali obratno (glede na osebo, ki si ji izmeril EKG)?

2. So v zapisu vidni val P, zobci Q, R in S ter val T?

3. So trajanja intervalov znotraj normalnih meja?

4. Kaj bi lahko pomenilo podaljšanje trajanja intervalov?

   Upočasnitev hitrosti prevajanja depolarizacije skozi ustrezni del srca.

5. Kaj bi pomenila sprememba oblike odklonov?

   Drugačno smer širjenja depolarizacije.

6. Kolikšna je frekvenca srca? Zaradi česa se lahko frekvenca srca zviša?

   Zaradi prehoda v stoječ položaj (padec tlaka in komprenzatorno zvišanje frekvence z baroreceptorskim refleksom), pri telesni dejavnosti (zaradi povečanega delovanja simpatičnega živčnega sistema in zmanjšanega delovanja parasimpatičnega živčnega sistema; prvi frekvenco zvišuje, drugi znižuje).

7. Razloži, zakaj se pri zamenjavi elektrod zapis zrcali čez vodoravnico?

   Ker ima projiciran vektor enako dolžino, kaže pa v nasprotno smer glede na smer odvoda.

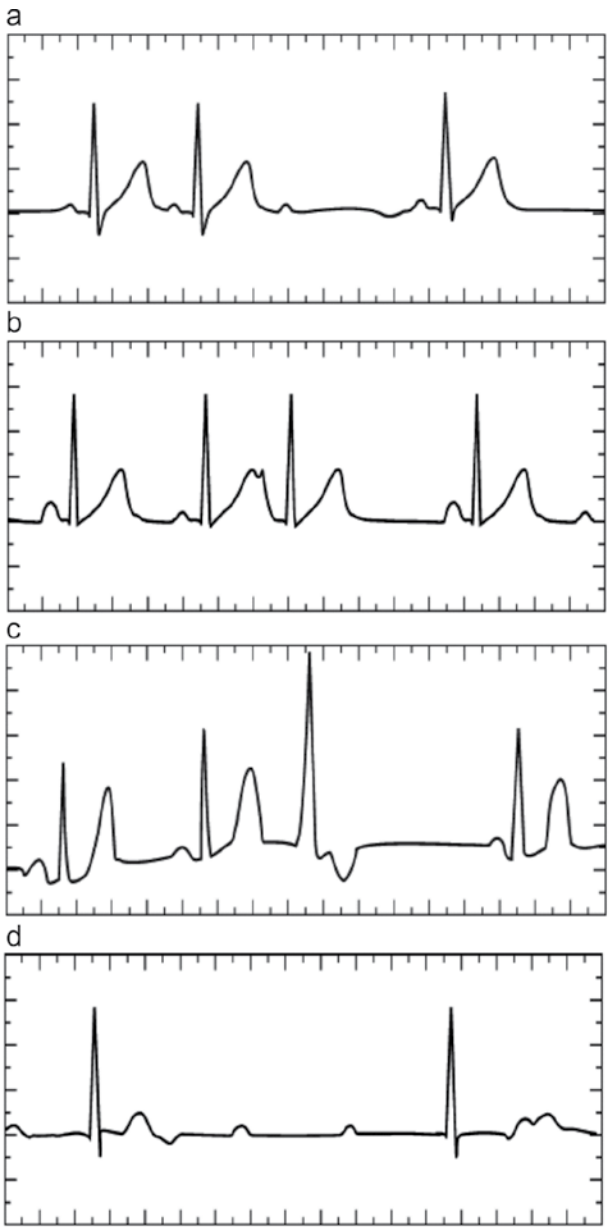
8. Oglej si spodnje EKG-zapise, tako da pri vsakem določiš prisotnost valov in zobcev za vsak srčni cikel.

   8.1. Ali tretjemu valu P v zapisu pod a) sledi kompleks QRS? (*Ne*). Kakšen je zadnji srčni cikel? (*Normalen*). Na kateri ravni je prišlo do motnje? (*Pri prevajanju depolarizacije med preddvoroma in prekatoma, to je na ravni atrioventrikularnega vozla/Hisovega snopa*).

   8.2. Ali se tretji srčni cikel pod b) začne pravočasno, pozneje kot normalno ali prej kot normalno? (*Predčasno*). Ali je pri tretjem srčnem ciklu viden val P? (*Da*). Kje se je začel ta srčni cikel, glede na to, da je viden val P? (*V preddvorih, najverjetneje v sinuatrialnem vozlu*).

   8.3. Ali se je tretji srčni cikel pod c) začel v preddvorih? (*Ne*). Utemelji svojo odločitev! (*Tretji cikel nima vala P*).

   8.4. Ali sta v zapisu pod d) depolarizacija preddvorov in prekatov usklajeni? *(Ne*).



Slika 13: Primeri patoloških EKG-zapisov. (Vir: Priročnik za uporabo Vernierja)

2.3.10 Kaj nam pove električna os srca?

Asist. dr. Andraž Stožer, dr. med., Inštitut za fiziologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Mariboru

Povzetek

S to vajo utrjujemo in poglabljamo znanje, osvojeno pri vaji »Elektrokardiogram«. Srce se med električnim vzdraženjem, ki ritmično potuje prek njega, obnaša kot električni dipol, ki ga imenujemo integralni dipol. Ta v točkah v svoji okolici povzroča električno polje in med pari točk v okolici srca lahko zato v vsakem trenutku izmerimo napetost, ki je sorazmerna s pravokotno projekcijo integralnega dipola na zveznico med danima točkama. Iz podatka o napetosti med dvema paroma točk v okolici srca, ki ne ležita na isti premici, lahko rekonstruiramo velikost in smer integralnega dipola. Smer integralnega dipola v trenutku nastanka zobca R v elektrokardiogramu, to je v času depolarizacije vrha srca in pri vrhu ležečih delov sten obeh prekatov, merjena glede na vodoravnico, se imenuje električna os srca. V tej vaji bomo iz elektrokardiografskega zapisa v dveh odvodih določili električno os srca.

Trajanje

V obliki uvodne teoretične obravnave in meritve: dve uri.

Povezava z biološkimi koncepti in cilji

Elektrokardiogram; utrditev predstav o izvoru signala pri elektrokardiogramu in njegovi povezavi z napetostjo, izmerjeno med merilnima točkama; srečanje s konceptom zunajceličnega zaznavanja električnih pojavov. F4/52.

Procesni cilji: P1, P2, P3, P11-P17

Medpredmetne povezave in potrebna predznanja drugih PREDMETOV

- *matematika* – vektorji;
- *fizika* – elektrostatika, električno polje, električni dipol, električna napetost.

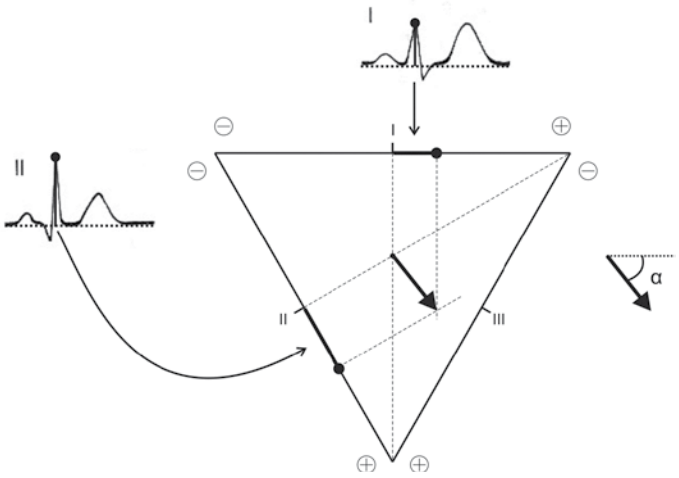
Pred to vajo naj se izvede vaja »Elektrokardiogram«.

Teoretična vsebinska izhodišča

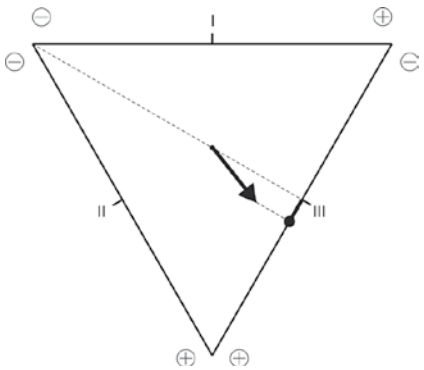
Smer integralnega dipola v času nastanka zobca R imenujemo električna os srca. Približno sovpada z anatomsko osjo, še pomembnejše pa je, da se pri povečanju debeline stene levega prekata (zaradi zvišanega arterijskega tlaka npr.) pomakne bolj na levo (glede na človeka, čigar EKG-zapis ocenjujemo), saj je na tej strani več vektorskih prispevkov, ki rezultanto, to je integralni dipol, pomaknejo na levo. Pri odmrtju dela srčne mišice na mestu odmrtja dipolov ni več, zato se os obrne stran od odmrlega dela.

Določitev električne osi srca

Postopek določitve električne osi srca prikazuje slika 1.



Slika 1: Postopek določitve električne osi srca. Amplitudo zobcev R v I. in II. standardnem odvodu nanesemo na stranici enakostraničnega trikotnika, katerih položaj označuje položaj zveznice med elektrodama pri I. in II. standardnem odvodu po Einthovnu. Pri tem amplitudo nanesemo tako, da se daljica začne na sredini stranice in poteka, če ima zobec R pozitivno amplitudo, od negativne proti pozitivni elektrodi in nasprotno. Skozi začetni in končni točki (ti sta označeni s črnima polnima krogcema) obeh nanesenih daljic potegnemo pravokotnici. Na presečišču pravokotnic skozi začetni točki (ta točka bi ob pravilni konstrukciji morala biti v središču enakostraničnega trikotnika) je začetek integralnega dipola, na presečišču pravokotnic skozi končni točki pa končna točka integralnega vektorja. Kot med konstruiranim integralnim vektorjem in vodoravnico, merjen od njenega levega kraka (glede na osebo, pri kateri merimo EKG), je smer električne osi srca (kot α).
Ob poznanih amplitudah zobca R v dveh odvodih lahko z ustreznim konstruiranjem določimo, kakšna bi bila amplituda zobca R v III. odvodu po Einthovnu (pri katerem je negativna elektroda na levi roki, pozitivna pa na levem gležnju). Postopek kaže slika 2.



Slika 2: Postopek določitve amplitude zobca R v III. odvodu ob poznanih vrednostih v I. in II. odvodu. V prvem koraku konstruiraš integralni dipol. Nato potegneš pravokotnici na stranico enakostraničnega trikotnika, ki označuje III. odvod po Einthovnu, tako da potekata skozi začetno in končno točko dipola. Presečišči teh dveh pravokotnic s stranico oblikujeta dve točki, med katerima lahko izmeriš dolžino amplitude zobca R v III. odvodu. Če je projekcija končne točke integralnega dipola (označena s polnim črnim krogcem) na stranici med središčem stranice in ogliščem stranice, označenim z znakom +, je zobec R v III. odvodu pozitiven, če pa je bližje oglišču, označenemu z –, je zobec R v III. odvodu negativen. V našem primeru je pozitiven.

Pri tej vaji boš posnel EKG-zapis v dveh odvodih in določil električno os srca.

Praktična vaja

II. standardni odvod po Einthovnu in določitev električne osi srca

Namen vaje

Pri tej vaji boš:

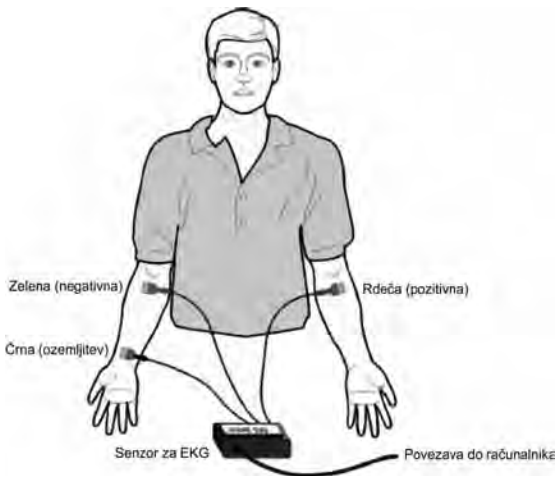
- poleg I. standardnega odvoda posnel zapis električne dejavnosti srca še za en par elektrod drugje v frontalni ravnini (II. standardni odvod po Einthovnu),
- prepoznal tipične valove, zobce in intervale normalnega elektrokardiografskega zapisa tudi v tem odvodu,
- izmeril amplitudo zobca R v II. odvodu,
- iz amplitude zobcev R v I. in II. odvodu rekonstruiral smer integralnega dipola glede na vodoravnico oziroma določil električno os srca.

Potrebščine

- računalnik
- Vernier
- program Logger Pro
- senzor za snemanje EKG
- samolepilne elektrode

Postopek

1. Poveži senzor za snemanje EKG na Vernierja, odpri datoteko *»12 Analyzing Heart EKG«* v mapi *»Human Physiology with Vernier«*.
2. Samolepilne elektrode nalepi na roki, kot kaže slika 3. Po eno elektrodo nalepi na notranji strani desne podlakti tik nad zapestjem in tik pod komolcem ter na notranji strani leve podlakti tik pod komolcem.
3. Žice senzorja za EKG poveži s samolepilnimi elektrodami, kot kaže slika 3. Črna žica (ozemljitev) gre na samolepilno elektrodo nad zapestjem, zelena (negativna) elektroda na samolepilno elektrodo pod desnim komolcem in rdeča (pozitivna) žica na samolepilno elektrodo pod levim komolcem.



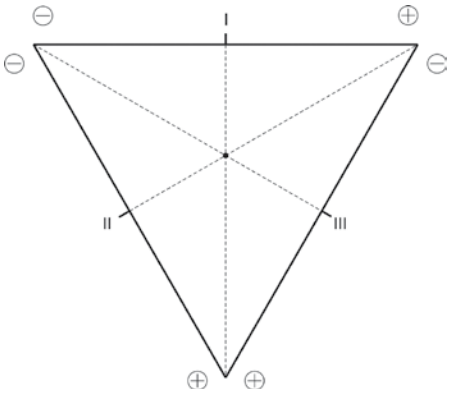
Slika 3: Postavitev samolepilnih elektrod in žic senzorja za EKG. (Vir: Priročnik za uporabo Vernierja)

4. Udobno se usedi na stol, tako da tvoji roki mirujeta položeni na stegna ali naslonjeni na naslonjalo za roke.
5. Ko si zavzel ta položaj, naj sošolec za začetek snemanja pritisne »*Collect*«.
6. Ko končaš snemanje, analiziraj posnetek, tako da s pritiskom in z miške označiš zobec R. Preberi vrednost amplitude (Δy), jo zaokroži na 0,01 mV natančno in jo vnesi v preglednico 1.
7. Za snemanje II. standardnega odvoda po Einthovnu prilepi samolepilne elektrode na:
   - notranji strani desne podlakti tik nad zapestjem,
   - na notranji strani levega gležnja in
   - na notranji strani desnega gležnja.
8. Žice senzorja za EKG poveži s samolepilnimi elektrodami. Črna žica (ozemljitev) gre na samolepilno elektrodo na desnem gležnju, zelena (negativna) elektroda na samolepilno elektrodo na desnem zapestju, rdeča (pozitivna) žica pa na samolepilno elektrodo na levem gležnju.
9. Posnemi EKG v II. standardnem odvodu in izmeri amplitudo zobca R na 0,01 mV natančno ter jo vnesi v preglednico 1.

Preglednica 1: Izmerjeni amplitudi zobcev R v I. in II. odvodu.

Odvod	Amplituda zobca R (mV)
I	
II	

10. S pomočjo spodnjega trikotnika rekonstruiraj električno os srca in določi njeno smer v kotnih stopinjah. Pri tem nanesi amplitudo zobca R v I. odvodu na bazo enakostraničnega trikotnika (na stranico, označeno z I) od sredine proti desni strani, če je zobec R bil odklonjen v pozitivno smer, in nasprotno. Pri tem naj amplitudi 1 mV ustreza dolžina 1 cm. Enako stori za amplitudo zobca R v II. odvodu, ki jo naneseš na stranico označeno z II. Skozi končni točki vrisanih daljic nariši pravokotnici in poišči njuno presečišče. Točko v središču enakostraničnega trikotnika poveži z dobljenim presečiščem. Kot, ki ga dobljena daljica oklepa z bazo trikotnika, je smer električne osi srca.



Slika 4: Einthovnov trikotnik za konstrukcijo integralnega dipola in določitev amplitude zobca R v III. odvodu.

11. Skozi oglišči daljice, ki ponazarja električno os srca, nariši pravokotnici še na stranico, označeno s III. Izmeri, kakšna bi bila amplituda zobca R v III. odvodu.

Analiza podatkov

II. standardni odvod po Einthovnu in določitev električne osi srca

1. Koliko znaša smer električne osi srca?

2. Kam bi se po tvoje pomaknila električna os srca pri povečanju mase levega prekata? Razmisli, zakaj se poveča masa prekata. Pride pri tem do povečanja števila srčnih mišičnih celic (hiperplazija) ali do povečanja volumna obstoječih (hipertrofija)? Na to vprašanje lahko dogovoriš, če pomisliš, ali lahko v odraslem srcu nastanejo nove srčne mišične celice, npr. po odmrtju nekaterih po infarktu. Obnovi znanje o kontrakciji srčnih mišičnih celic.

   Masa prekata se poveča zaradi volumske ali tlačne obremenitve. Prvo se zgodi pri aerobnih športih, drugo pri anaerobnih športih in pri arterijski hipertenziji. Pri tem pride do povečanja obstoječih srčnih mišičnih celic-hipertrofije.

3. Od katerega kota električne osi srca naprej je zobec R v III. odvodu pozitiven?

   Od 30° stopinj naprej.

4. Za vajo določi še električno os srca za primer, da bi bila amplituda zobca R v III. odvodu takšna, kot si jo izmeril v II. odvodu. Koliko bi v tem primeru znašala amplituda zobca R v II. odvodu?

2.3.11 Glukoza v krvi in oralni glukozni tolerančni test

Dr. Maša Skelin Klemen, Inštitut za fiziologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Mariboru

Povzetek

Glukoza je poglavitni energetski substrat v telesu, zato je pomembno, da je njena koncentracija v krvi natančno uravnana. Največji porabnik glukoze v mirovanju je centralni živčni sistem (CŽS), ki je nujno odvisen od glukoze in lahko druge vire energije uporablja le izjemoma. Najpomembnejši cilj presnovnega prilagajanja je torej zagotoviti zadostno koncentracijo glukoze v krvi za normalno delovanje CŽS. Na drugi strani je zaradi kronično zvišane koncentracije glukoze v krvi motena presnova ogljikovih hidratov, maščob in beljakovin in to povzroča kronično okvaro, motnjo ali odpoved delovanja različnih organov, posebno oči, ledvic, živcev, srca in ožilja. V sklepnem delu prispevka je predstavljena izvedba oralnega glukoznega tolerančnega testa (OGTT), s katerim testiramo homeostazo glukoze pri posamezniku in ga lahko izvedemo tudi pri učencih v razredu.

Trajanje

V obliki poskusa po skupinah: tri šolske ure

Povezava z biološkimi koncepti in cilji

F4-61, F4-62, F4-63, P1-P4, P11-P17

Medpredmetne povezave in potrebna predznanja drugih predmetov

- *kemija*

Teoretično vsebinska izhodišča

Glukoza je poglavitni energetski substrat v telesu. Zlasti v živčnih celicah je glukoza najpomembnejši vir energije, zato je pomembno, da je njena koncentracija v krvi zadostna za njihovo normalno delovanje (ohranjanje zavesti). Razgradnja glukoze poteka v dveh fazah. Prva faza – glikoliza poteka v citosolu celice. Je anaeroben proces, kjer pride do razgradnje ene molekule glukoze do dveh molekul piruvata (oz. laktata). Nadaljnja razgradnja piruvata do CO_2 in vode je aeroben proces in poteka v mitohondrijih. V tkivih oziroma celicah, ki nimajo mitohondrijev, t. i. glikolitičnih tkivih (npr. eritrocitih, celicah tubulov ledvične sredice), je pridobivanje energije omejeno izključno na glikolizo. Drugih energetskih substratov ta tkiva ne morejo uporabljati.

Največji porabnik glukoze v mirovanju je centralni živčni sistem (CŽS), saj porabi okrog 60 odstotkov metabolizirane glukoze. CŽS lahko izjemoma kot vir energije

poleg glukoze uporablja laktat in ketonska telesa[8] (pri dolgotrajnem stradanju), vendar je prilagoditev dolgotrajna. Glukoza vstopa v živčne celice neodvisno od inzulina s pomočjo olajšane difuzije skozi glukozne prenašalce tipa 3 (GLUT3). Najpomembnejši cilj presnovnega prilagajanja je torej zagotoviti zadostno koncentracijo glukoze v krvi za normalno delovanje CŽS. Na drugi strani je zaradi kronično zvišane koncentracije glukoze v krvi motena presnova ogljikovih hidratov, maščob in beljakovin. Kronična hiperglikemija povzroča kronično okvaro, motnjo ali odpoved delovanja različnih organov, posebno oči, ledvic, živcev, srca in ožilja.

Pri zdravih ljudeh se koncentracija glukoze v krvi na tešče giblje med 3,6 in 6,0 mmol/l. Po zaužitju raztopine glukoze (ali obroka hrane) se ta vsrka in sledi dvig koncentracije glukoze v krvi. Porast koncentracije glukoze v krvi je poglavitni fiziološki dražljaj za celice beta Langerhansovih otočkov trebušne slinavke, da začnejo izločati hormon inzulin. Ta se izloča v pankreasno veno in od tam v portalno veno, kjer se pridruži toku hranilnih snovi, vsrkanih v prebavilih. Takšna razporeditev pomeni izpostavljenost jeter višjim koncentracijam inzulina v primerjavi s perifernimi tkivi. Pri prehodu krvi skozi jetra se več kot polovica razpoložljivega inzulina veže na inzulinske receptorje jetrnih celic (hepatocitov). Učinek inzulina se kaže s povišanjem stopnje anabolnih procesov, obenem pa se zmanjša stopnja katabolnih procesov v organizmu.

Pomembne tarče inzulina so jetra, skeletna mišičnina in založno maščevje (adipozno tkivo, slika 1). V jetrih se koncentracija glukoze v celicah hitro izenači z zunajcelično koncentracijo, saj glukoza vanje prehaja z inzulinom neodvisnih glukoznih prenašalcev tipa 2 (GLUT 2). Do 2/3 glukoze, ki jo vsrkamo iz prebavil, se v hepatocitih skladišči v obliki glikogena (glikogeneza). Koncentracija glikogena v jetrih lahko doseže tudi do 10 odstotkov mase jeter (> 100 g glikogena). Ko so glikogenske zaloge jeter zapolnjene, se pod vplivom inzulina v jetrih prebitek glukoze pretvarja v proste maščobne kisline (PMK). Iz PMK in glicerola se tvorijo trigliceridi, ki se v kri sproščajo v obliki lipoproteinov. Ti potujejo po krvi v adipozno tkivo, kjer inzulin spodbuja skladiščenje trigliceridov. V jetrih inzulin zavira razgradnjo že uskladiščenega glikogena (glikogenoliza) in glukoneogenezo (proces, kjer glukoza nastane iz nesladkornih virov – aminokislin, glicerola, laktata), tako da zmanjša vnos aminokislinskih prekurzorjev v jetra in količino ali delovanje encimov, ki sodelujejo pri glukoneogenezi.

V nedelujočih skeletnih mišicah sproži vezava inzulina na inzulinske receptorje premik glukoznih prenašalcev tipa 4 (GLUT 4) s citosola na plazmalemo, kar v prvi minuti poviša prenos glukoze v mišice za 20-krat. Glede na količino razpoložljivega inzulina je od 20 do 50 odstotkov glukoze, ki preide v mišice, podvržene oksidativnemu metabolizmu. Presežek glukoze se pod vplivom inzulina shrani v obliki glikogena[9]. Zaradi odsotnosti glukoza-6-fosfataze v endoplazemskem retikulumu mišične celice iz glikogena sproščene glukoze ne morejo oddati v kri. Tako

[8] *Ketonska telesa nastanejo kot stranski produkt razgradnje prostih maščobnih kislin. Mednje prištevamo aceton, acetoacetat in beta-hidroksinutirat. Nastajanje ketonskih teles se imenuje ketogeneza in je v majhnem obsegu potrebna za organizem. Čezmerna ketogeneza (ob stradanju, pri sladkorni bolezni) povzroči kopičenje ketonskih teles v organizmu in posledično znižanje pH, kar imenujemo ketoacidoza.*

[9] *V mišicah je koncentracija glikogena precej nižja (1 odstotek mase) kot v jetrih, vendar je zaradi večje skupne mišične mase skupna količina glikogena v mišicah večja kot v jetrih.*

se mišični glikogen uporablja izključno kot lokalni vir energije. V mišicah inzulin zavira razgradnjo trigliceridov, ki so shranjeni med mišičnimi vlakni in stimulira od Na^+ odvisen privzem nevtralnih aminokislin v mišično celico in sintezo beljakovin (slika 1).

Tretje tarčno tkivo inzulina je maščobno (adipozno) tkivo, kjer inzulin vzpodbudi shranjevanje in blokira mobilizacijo in oksidacijo maščobnih kislin. Raven PMK in ketonskih teles v krvnem obtoku se tako zelo hitro zniža, prav tako inzulin znižuje raven trigliceridov. Z zaviranjem razgradnje trigliceridov (lipolize) se ustavita sproščanje shranjenih maščobnih kislin in glicerola iz maščobnih celic (adipocitov) in dostava v jetra in periferna tkiva. Glavna posledica zmanjšane dostave PMK v jetra je zmanjšan nastanek ketonskih teles, ki nastanejo kot stranski produkt pri razgradnji PMK in so lahko vir energije. Inzulin poleg tega spodbuja porabo ketonskih teles v perifernih tkivih in je tako glavni antiketogeni hormon v organizmu. Pri sladkornih bolnikih je lahko zaradi pomanjkanja inzulina ketogeneza čezmerna in pri zelo visokih koncentracijah ketonskih teles v organizmu se pH nevarno zniža. Aceton, ki je eno izmed ketonskih teles, se izloča z izdihanim zrakom, zato imajo takšni pacienti zadah po acetonu.

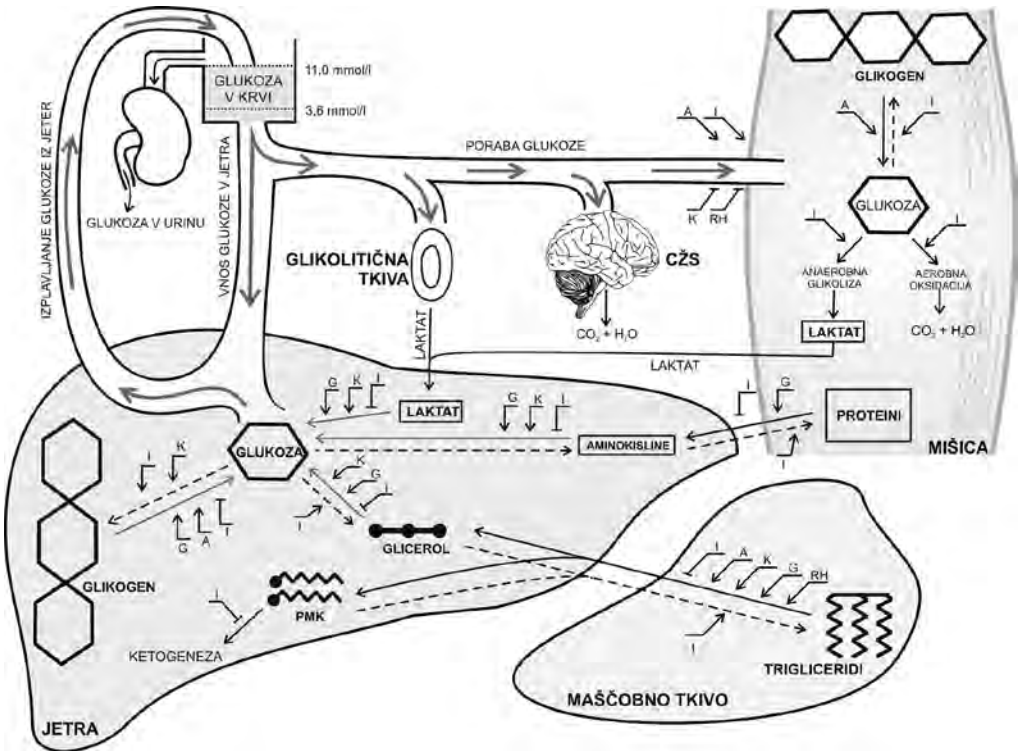
Inzulin se zelo hitro razgrajuje, saj v približno šestih minutah njegova koncentracija upade na 50 odstotkov. Presnavlja se v ledvicah in jetrih. Razgradnja vključuje endocitozo kompleksa inzulin-inzulinski receptor, sledi delovanje razgradnega encima inzulinaze, ki cepi disulfidne vezi in loči verigi A in B. V ledvicah se inzulin filtrira, reabsorbira v celice in razgradi. Zelo majhne količine inzulina se nespremenjene izločijo z urinom.

Inzulin z že omenjenimi mehanizmi povzroči, da koncentracija glukoze po zaužiti hrani hitro upade (normalno po dveh urah) na normoglikemično raven. V obdobjih med posameznimi obroki, ko se pojavi potreba po glukozi, so jetra tista, ki izplavljajo glukozo v kri in tako skrbijo za vzdrževanje njene koncentracije v normalnih mejah. Nižanje koncentracije glukoze v krvi (že preden doseže spodnji prag normoglikemične koncentracije) sproži sproščanje hormona glukagona iz celic alfa Langerhansovih otočkov trebušne slinavke. Glukagon deluje hiperglikemično, saj v jetrih sproži razgradnjo uskladiščenega glikogena v glukozo (glikogenoliza), ustavi se tvorba glikogena (glikogeneza) in sproži se glukoneogeneza. Tako sintetizirana glukoza se sprošča v kri. Pri visokih koncentracijah glukagona se poviša razgradnja trigliceridov in zavira shranjevanje maščob v založnem maščevju. Sproščene PMK so vir energije za periferna tkiva in glukoneogenezo.

Pri močni hipoglikemiji (ko vrednosti padejo pod normalno raven) se iz sredice nadledvične žleze izloča adrenalin, ki z učinki na adrenergične receptorje zavira izločanje inzulina in sproži izločanje glukagona. Z neposrednimi presnovnimi učinki na jetra poviša razgradnjo glikogena in sintezo glukoze iz nesladkornih virov. S tem se iz jeter sprošča dodatna glukoza. Če hipoglikemija traja dalj časa (več ur), se sproščata rastni hormon in kortizol, ki zmanjšata občutljivost skeletnih mišičnih vlaken in adipocitov na inzulin in s tem zmanjšata vstop glukoze v tkiva. Metabolizem glukoze se tako zniža. Poleg tega v večini tkiv povečata presnovo maščob, kar pomaga pri varčevanju z glukozo in ohranja njene koncentracije v krvi v normalnih mejah. Kortizol poleg tega poviša tudi sintezo encimov, ki so vključeni v glukoneogenezo in tako okrepi delovanje adrenalina in glukagona.

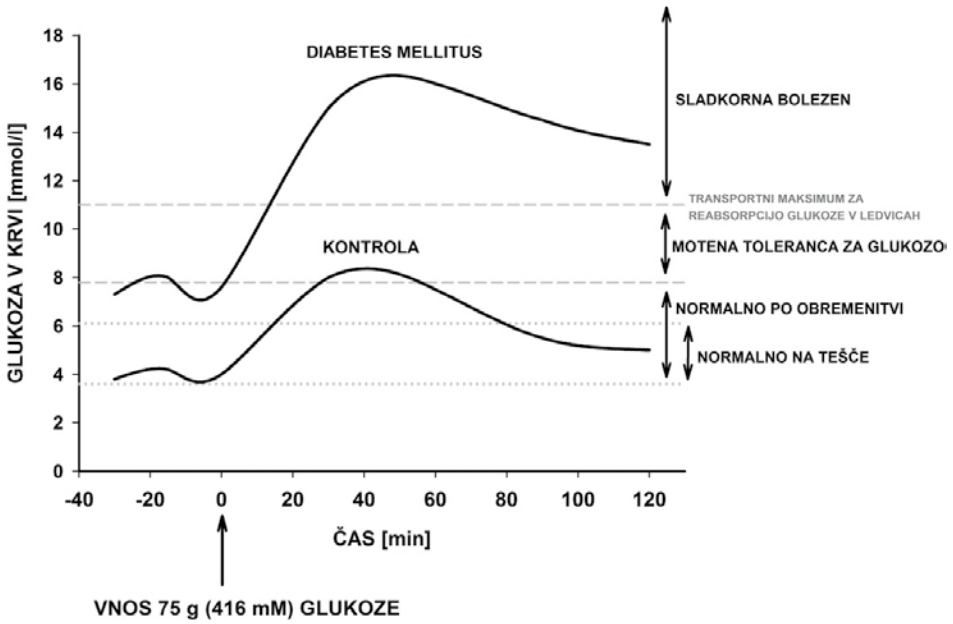
Po hranjenju se kot posledica zvišanih koncentracij glukoze, aminokislin, maščobnih kislin ter gastrointestinalnih hormonov sprošča tudi hormon somatostatin iz

celic delta Langerhansovih otočkov. Somatostatin deluje parakrino (na sosednje celice) na celice alfa in beta v Langerhansovih otočkih tako, da zavira sproščanje glukagona in inzulina. Deluje tudi na prebavno cev, kjer zmanjša njeno delovanje in vsrkavanje hranil. Posledica upočasnjene prebave je zmanjšano nihanje koncentracije glukoze v krvi po obroku.



Slika 1: Metabolizem glukoze.(Za opis glej besedilo)
I-inzulin, G-glukagon, A-adrenalin, K-kortizol, RH-rastni hormon, ↓⌐ - stimulira, ⌐ - zavira

Pri zdravih ljudeh se vrednosti koncentracije glukoze v krvi na tešče gibljejo med 3,6 in 6,0 mmol/l (normoglikemija). Če pade vrednost pod 3,0 mmol/l, govorimo o hipoglikemiji, ko izmerimo koncentracijo, višjo od 7,0 mmol/l, govorimo o hiperglikemiji. Vrednost glukoze na tešče, ki je višja od 7,0 mmol/l, je diagnostična meja za sladkorno bolezen. Da bi lahko moteno homeostazo glukoze odkrili še pred razvojem sladkorne bolezni, se v kliniki pogosto uporablja obremenitveni test z glukozo – oralni glukozni tolerančni test (OGTT). Pri OGTT telo obremenimo s standardno količino glukoze (75 g) in izmerimo koncentracijo glukoze v krvi dve uri po obremenitvi (slika 2). Pri zdravih ljudeh koncentracija glukoze v krvi dve uri po obremenitvi pade pod 7,8 mmol/l. Presežena vrednost 11,0 mmol/l je diagnostična meja za sladkorno bolezen. Kadar se vrednosti glukoze v krvi dve uri po zaužitju 75 g OGTT gibljejo med 7,8 in 11 mmol/l, govorimo o moteni toleranci za glukozo (MTG), ki je najbolj blaga oblika kronične hiperglikemije in je pogosto predstopnja sladkorne bolezni tipa 2. Druga predstopnja sladkorne bolezni je mejna bazalna glikemija (MBG), za katero je značilna koncentracija glukoze v krvi na tešče med 6,1 in 6,9 mmol/l. Mejno zvišane vrednosti krvnega sladkorja lahko s pravočasnimi ukrepi (znižanje vnosa kalorij s spremembo prehrane in zvišanje porabe kalorij s telesno dejavnostjo) znižamo na normalno raven in preprečimo razvoj sladkorne bolezni.



Slika 2: OGTT pri zdravem človeku in bolniku s sladkorno boleznijo. Pri oralnem glukoznem toleračnem testu (OGTT) telo obremenimo s 75 g glukoze in izmerimo koncentracijo glukoze v krvi dve uri po obremenitvi. Pri zdravih ljudeh se koncentracija glukoze v krvi zniža pod 7,8 mmol/l, pri bolnikih s sladkorno boleznijo vrednosti ostanejo višje od 11,0 mmol/l. Če se koncentracije glukoze v krvi gibljejo med 7,8 mmol/l in 11,0 mmol/l, govorimo o moteni toleranci za glukozo.

Priporočena literatura in viri

1 *Boron, W. F., Boulpaep, E. L. (2009). Medical physiology: a cellular and molecular approach, 2nd ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, cop.*

2 *Despopoulos, A. and Silbernagl, S. (2003). Color atlas of physiology, 5th ed. Stuttgart: Georg Thieme Verlag.*

3 *Hall, J. E. (2011). Guyton and Hall Textbook of medical physiology, 12th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier.*

4 *Slovenske smernice za klinično obravnavo sladkorne bolezni tipa 2 pri odraslih osebah (junij 2011). Slovensko diabetološko združenje. Dostopno na: www.endodiab.si (11. 3. 2013).*

5 *Stožer, A., Križančić Bombek, L., Dolenšek, J., Skelin, M. (2012). Izbrana poglavja iz fiziologije za študente medicine: z navodili za vaje, 1. izd. Maribor: Medicinska fakulteta.*

Učni list 1

Izvedba oralnega glukozno tolerančnega testa

Opozorila

Praktični del vaje vključuje delo z biološkimi tekočinami (krvjo), zato je treba vajo izvesti skrajno skrbno. Učitelj naj načrtuje delo glede na veljavno zakonodajo in upošteva varno laboratorijsko prakso.

Če gre za odvzem krvi mladoletnim osebam, je pred samo izvedbo vaje treba s potekom vaje seznaniti starše dijakov in pridobiti njihovo pisno soglasje za odvzem krvi dijakom.

Pred odvzemom krvi je treba dijake seznaniti s posegom (kapilarni odvzem krvi iz prsta) in namenom posega, ki je v našem primeru meritev koncentracije glukoze v krvi. Poseg je treba izvesti po aseptični metodi in samo pri zdravih dijakih. Bolni dijaki naj pri vaji ne sodelujejo.

Meritev koncentracije glukoze izvedemo s testnimi lističi in glukometrom, ki je biosenzorni merilnik sladkorja. Omogoča enostavno in relativno natančno meritev krvnega sladkorja v samo nekaj sekundah. Za meritev je potrebna minimalna količina krvi (kapljica krvi oz. nekaj µl krvi). Postopek odvzema kapilarne krvi (iz prsta) je standarden postopek odvzema krvi, ki ga velika večina sladkornih bolnikov vsakodnevno opravlja doma, številni tudi večkrat na dan, zato da dosežejo boljšo urejenost sladkorne bolezni (vrednosti glukoze v krvi skušajo čim bolj približati vrednostim glukoze pri zdravih ljudeh).

Testni listič vstavimo v glukometer, kot je navedeno v navodilih za uporabo glukometra. Odvzem kapilarne krvi izvedemo na prstu leve ali desne roke.

Dijaki si umijejo roke in jih temeljito posušijo. S pomočjo lističa za razkuževanje si dezinficirajo prst, iz katerega bomo vzeli vzorec krvi. Pazimo, da prst osušimo, saj ostanek alkohola na prstu moti delovanje glukometra. Če dijak odvzema krvi ne izvede sam, naj oseba, ki bo kri odvzela, nosi zaščitne rokavice.

Lanceto vstavimo v samosprožilec, ki ga nastavimo na razkužen in osušen prst, ter ga izprožimo. Mesto vboda naj bo na sredini blazinice prsta. Ko je kaplica krvi dovolj velika, približamo glukometer s testnim lističem in pustimo, da kri napolni testni listič. Po nekaj sekundah se nam na zaslonu aparata prikaže rezultat (mmol/l ali mg/dl). Če kapljica krvi ne napolni v celoti testnega lističa, se bo na zaslonu glukometra izpisala napaka. V tem primeru je treba celoten postopek ponoviti, pri čemer uporabimo novo lanceto in novi testni listič. Lanceto po uporabi pazljivo odstanimo iz glukometra in jo zavržemo v posodo za varno odstranjevanje uporabljenih lancet in glukoznih lističev. Enako storimo z uporabljenim testnim lističem. Za vsako meritev je treba uporabiti novo, sterilno lanceto in še neuporabljen testni listič.

Pripomočki za izvedbo oralnega glukoznega tolerančnega testa

- sladkor (lahko saharoza),
- voda,
- Coca-Cola (0,5 l na osebo),
- testni lističi za glukozo,
- merilnik sladkorja v krvi (glukometer),
- lističi za razkuževanje,

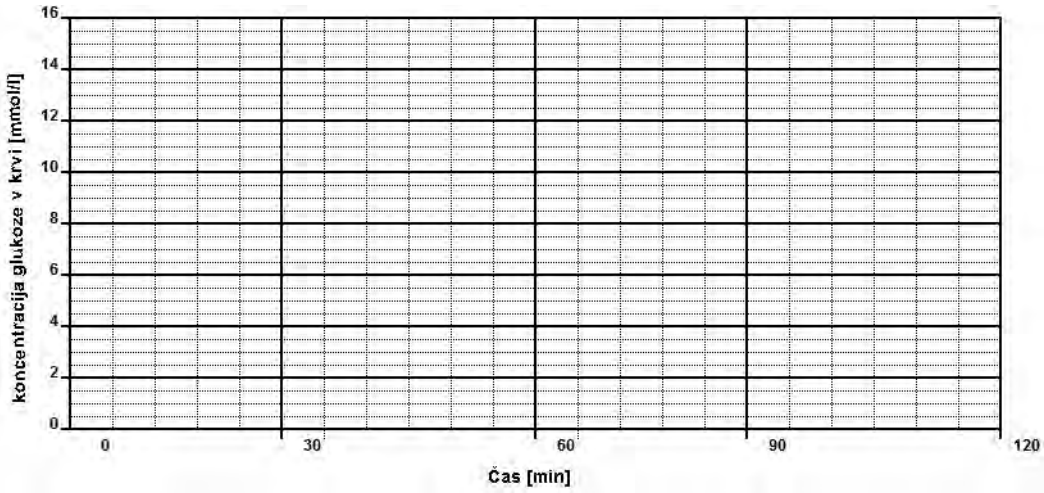
- lancete,
- rokavice za varnejše delo,
- posoda za varno odstranjevanje uporabljenih lancet in glukoznih lističev,
- po želji lahko poleg/namesto Coca-Cole uporabite sadni sok, mleko ...

Potek izvedbe:

- pomembno je, da so učenci pred vajo tešči (če vaja ne poteka v jutranjih urah, je priporočljivo, da so brez hrane in tekočine (razen vode) vsaj 3–4 ure);
- učence razdelite v tri skupine (po potrebi tudi več);
- prva skupina učencev bo kontrolna skupina, ki bo zaužila samo 2–3 dl vode;
- druga skupina učencev bo zaužila 75 g sladkorja raztopljenega v 2–3 dl vode;
- tretja skupina učencev bo zaužila 0,5 dl Coca-Cole (ali soka, mleka ...)
- pripravimo glukometer in lanceto za odvzem krvi;
- vsi učenci si najprej izmerijo vrednosti glukoze na tešče po navodilih, ki so navedena zgoraj;
- sledi zaužitje tekočine (vode, sladkorja raztopljenega v vodi, Coca-Cole ...) v najkrajšem možnem času (5 minut);
- vrednosti glukoze v krvi si učenci izmerijo nato 30, 60, 90 ali 120 minut po zaužitju (merjeno od začetka zaužitja tekočine) in jih zapišejo v preglednico 1;
- na graf (slika 3) lahko narišete, kako se je koncentracija glukoze v krvi spreminjala s časom (za primerjavo naj vsak učenec zapiše še podatke dveh učencev iz drugih skupin).

Preglednica 1: Vrednosti koncentracije glukoze v krvi po obremenitvi

	Glukoza (mmol/l)		
	Kontrola	**Sladkana voda**	**Coca-Cola**
Ime učenca / **Čas (min)**			
0			
30			
60			
90			
120			



Slika 3: Graf koncentracije glukoze v krvi po obremenitvi

Če učitelj meni, da testa z dijaki ne more izvesti bodisi zaradi časovne stiske bodisi zaradi nestrinjanja dijakov in njihovih staršev s posegom odvzema krvi, se lahko vaja izvede tudi teoretično. Učitelj v preglednico 1 vnese vrednosti glukoze v krvi, ki jih pričakuje pri zdravih dijakih v posamezni skupini (sladkana voda, Coca-Cola, kontrola). Dijaki narišejo graf koncentracije glukoze v krvi in dobljene rezultate komentirajo. Prav tako lahko učitelj izdela tabelo, v katero vnese vrednosti glukoze v krvi, ki jih pričakuje po zaužitju sladkane vode pri ljudeh s sladkorno boleznijo. Dijaki ponovno narišejo graf koncentracije glukoze v krvi in analizirajo dobljene rezultate. Takšna teoretična vaja je opisana v osnovnošolskem priročniku.

Vprašanja v razmislek

- Zakaj naše telo koncentracijo glukoze v krvi tako natačno uravnava?
- Naštejte organe, ki za svoje delovanje nujno potrebujejo glukozo!
- Kakšne so vrednosti glukoze v krvi pri zdravih in teščih ljudeh?
- Katere so diagnostične meje za sladkorno bolezen?
- Kdaj naše telo izloča inzulin?
- Od kod se izloča inzulin in kakšna je njegova vloga v telesu?
- Kako inzulin deluje na mišice?
- Kako inzulin deluje na jetra?
- Ali ima inzulin učinke tudi na založno maščevje?
- Kakšna je vloga glukagona v telesu?
- Kako lahko naš CŽS normalno deluje, če že nekaj ur nismo zaužili ničesar?
- Kakšna je vloga adrenalina, kortizola in rastnega hormona v telesu?
- Kakšne so posledice previsokih koncentracij glukoze v telesu?
- Kakšne so posledice prenizkih koncentracij glukoze v telesu?

2.3.12 Pljučni volumni in pretok

Dr. Jurij Dolenšek, Inštitut za fiziologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Mariboru

Kratek povzetek

Pljučni sistem sodeluje pri transportu plinov in pomaga vzdrževati bazno-kislinsko ravnotežje v človeškem telesu. Na pričujoči vaji bomo izmerili prostornino zraka, ki ga predihujemo med normalnim, tihim dihanjem. Izmerili bomo največjo prostornino zraka, ki ga lahko iztisnemo iz pljuč. Natančno bomo opisali mehaniko gibanja prsnega koša med dihalnimi gibi in razjasnili, zakaj se prsni koš širi med krčenjem mišic.

Trajanje

V obliki demonstracijske vaje (le ena meritev na učenca): ena ura

V obliki vaje (vsak učenec izvede meritev, primerjava rezultatov): več kot dve uri

Povezava z biološkimi koncepti in cilji

- B – Raziskovanje in poskusi
- F4 – Zgradba in delovanje človeka in drugih živali (F4-43, F4-44, F4-45, F4-46)
- L – Kako deluje znanost 8, 11, 12

Procesni cilji

P1-P4 in P11-P17

Medpredmetne povezave in potrebna predznanja drugih predmetov:

- *fizika (*mehanika, vzvodi, pretok),
- *matematika*

Uvod

Aerobni organizmi porabljamo kisik, da ohranjamo življenjske funkcije. Na modelnem organizmu človeka bomo pogledali, kako dihalni sistem dovaja kisik v človeško telo in kakšne so še njegove funkcije. Dihalni sistem ima tri primarne naloge, ki jih mora uspešno opravljati za normalno delovanje človeškega telesa. Zagotavlja kisik, ki ga porabljamo pri celičnem dihanju, za energijske potrebe človeškega telesa. Sočasno omogoča izločanje ogljikovega dioksida, ki v procesu celičnega dihanja nastaja in ga mora telo izločiti za normalno delovanje. Če raven izločanja ne zadosti ravni nastajanja ogljikovega dioksida, lahko pride do neto presežka ogljikovega

dioksida v krvi. Presežek ima smrtno nevarno posledico, saj povzroči spremembo pH krvi proti kislim vrednostim. Raven ogljikovega dioksida zato skrbno nezavedno vzdržujemo pri pravilni vrednosti, ki ustreza normalnemu krvnemu pH. Če se zgodi prej omenjeno zakisanje krvne plazme, bi ga kompenzirali tako, da bi povečali izločanje ogljikovega dioksida iz krvne plazme tako, da bi povečali ventilacijo pljuč. Na lastnem telesu bi tak kompenzatorni odziv zaznali kot poglobljeno in hitro dihanje, ki ga ne bi povzročili z lastno voljo.

Na tem mestu opozorimo na razliko med celičnim in pljučnim dihanjem. Na kratko, prvo pomeni biokemijske procese na ravni posamezne celice, s katerimi razgradimo organske molekule (npr. glukozo) in pridobimo energijo v obliki ATP, nastajata pa ogljikov dioksid in metabolna voda. Pljučno dihanje pa pomeni izmenjavo plinov med pljučnimi mešički in krvjo, ki ga poganja po eni strani ventilacija pljuč z dihalnimi gibi in po drugi strani tok krvi skozi krvožilni sistem.

Pri ugotavljanju zdravstvenega stanja je pomembno orodje merjenje pljučnih volumnov in največjih pretokov zraka skozi pljuča. Pri vaji bomo merili pljučne volumne.

Priporočena literatura in viri

1 *Boron, W. F., Boulpaep, E. L. (2009). Medical physiology: a cellular and molecular approach, 2nd ed. Philadelphia: Elsevier Saunders.*

2 *Hall, J. E. (2011). Guyton and Hall Textbook of medical physiology, 12th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier.*

3 *Ribarič, S. (ur.) (2008). Seminarji iz patološke fiziologije, 1. izd. Ljubljana: Medicinska fakulteta, Inštitut za patološko fiziologijo.*

4 *Ribarič, S. (ur.) (2012). Seminarji iz patološke fiziologije, 2. izd. Ljubljana: Medicinska fakulteta, Inštitut za patološko fiziologijo.*

5 *Stožer, A., Dolenšek, J., Marjan, R. (2012). Fiziologija pljuč, 1. del. Medicinski razgledi, 2012/3-4/02.*

6 *Stožer, A., Dolenšek, J., Marjan, R. (2012). Fiziologija pljuč, 2. del. Medicinski razgledi, 2012/3-4/03.*

7 *Stožer, A., Dolenšek, J., Marjan, R. (2012). Fiziologija pljuč, 3. del. Medicinski razgledi, 2012/3-4/04.*

8 *Stožer, A., Križančić Bombek, L., Dolenšek, J., Skelin, M. (2012). Izbrana poglavja iz fiziologije za študente medicine: z navodili za vaje, 1. izd. Maribor: Medicinska fakulteta.*

9 *Stocks, J., Quanjer, P. H. (1995). Reference values for residual volume, functional residual capacity and total lung capacity. European Respiratory Society, 8, 492 (Mar, 1995).*

10 *West, J. B. (2005). Respiratory physiology: The essentials, 7th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.*

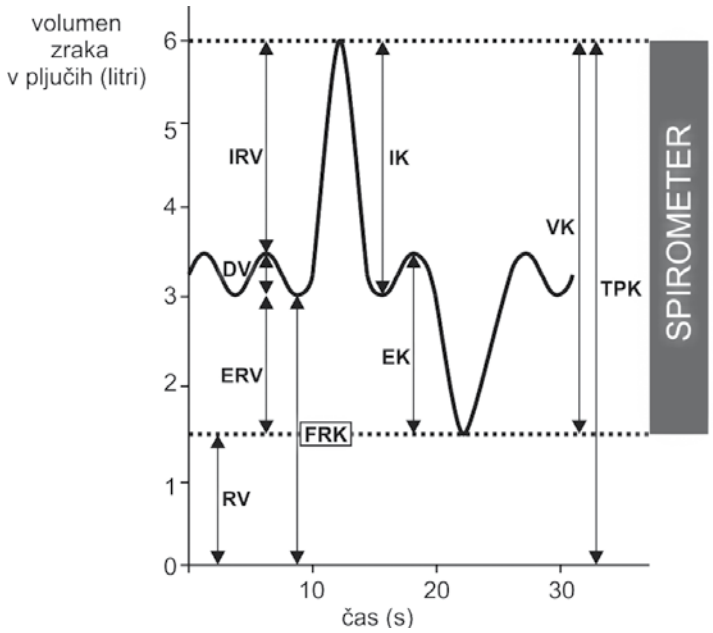
Učni list 1

Pljučni volumni in pretok

Prostornino vdihanega in izdihanega zraka merimo z napravo, ki jo imenujemo spirometer. Klasični zvonasti spirometer sestavlja zvon, napolnjen z zrakom, ki »plava« na vodi med stenama cilindra. Pisalo je pripeto na zvon, rezultate pa zapisuje na vrteči se boben (kimograf). Med vdihom porabimo zrak iz zvona, zato se pisalo premakne in izpiše vrednost vdihane prostornine, izdihani zrak pa s premikom zvona na valju zapiše vrednost izdihanega volumna. Rezultati prikazujejo časovne spremembe v volumnih. Takšnih spirometrov v praksi ne uporabljamo več, saj niso priročni za uporabo. Na vaji bomo uporabili računalniški vmesnik, ki meri pretok zraka (in ne neposredno prostornin) in ga lahko uporabimo, da izračunamo izdihane volumne. Tok zraka skozi cev vmesnika med izdihom ustvari natezno silo na mrežici, ki je napeta prek preseka cevi in predstavlja znan upor za zračni tok. Natezna sila (iz pouka fizike to silo poznate kot silo curka) je sorazmerna pretoku zraka skozi dihalno cev.

Izračun izdihanega volumna zahteva integracijo majhnih sprememb volumnov, ki so v času vzorčenja povzročili izmerjene pretoke. Seštevek majhnih sprememb volumnov pomaga določiti izdihani volumen.

Totalno pljučno kapaciteto (volumen zraka, ki je v pljučih po maksimalnem vdihu) lahko razdelimo na štiri funkcionalne volumne: dihalni volumen, inspiratorni rezervni volumen (inspirij = vdih), ekspiratorni rezervni volumen (ekspirij = izdih) in rezidualni (rezidij = preostanek) volumen (slika 1).



Slika 1: Pljučni volumni in kapacitete. DV dihalni volumen, IRV inspiratorni rezervni volumen, ERV eksipratorni rezervni volumen, IK inspiratorna kapaciteta, EK ekspiratorna kapaciteta, VK vitalna kapaciteta, TPK totalna pljučna kapaciteta, RV rezidualni volumen in FRK funkcionalna rezidualna kapaciteta. Na sliki je označen del prostornine zraka v pljučih, ki ga lahko izdihnemo in ga zatorej lahko izmerimo s spirometrijo. RV in FRK s spirometrijo ne moremo izmeriti, saj tudi po maksimalnem izdihu v pljučih ostane volumen zraka, ki ga označimo kot RV (avtor: Jurij Dolenšek).

Dihalni volumen (DV) je prostornina posameznega vdiha oziroma izdiha med normalnim, tihim dihanjem. Dihalni volumen med normalnim, tihim dihanjem znaša približno 0,5 litra. **Inspiratorni rezervni volumen** (IRV) je prostornina zraka, ki ga lahko dodatno maksimalno vdihnemo po normalnem vdihu. **Ekspiratorni rezervni volumen** (ERV) je prostornina zraka, ki ga lahko maksimalno izdihnemo po normalnem izdihu. **Rezidualni volumen** (RV) je prostornina zraka, ki ostane v pljučih po maksimalnem izdihu in ga s spirometrijo ne moremo izmeriti. RV znaša približno 1 liter.

Pljučna kapaciteta je vsota dveh ali več primarnih pljučnih volumnov (slika 1):

1. **Inspiratorna kapaciteta (IK)** IK = DV + IRV
2. **Ekspiratorna kapaciteta (EK)** EK = DV + ERV
3. **Funkcionalna rezidualna kapaciteta (FRK)** FRK = ERV + RV
4. **Vitalna kapaciteta (VK)** VK = IRV + DV + ERV
5. **Totalna pljučna kapaciteta (TPK)** TPK = IRV + DV + ERV + RV

VC je omejena z velikostjo prsne votline posameznika in z močjo dihalnih mišic, ki pljuča širijo in ožijo. Glede na spol, telesno višino (cm) in starost (leta) lahko predvidimo VC:

$$VC_{moški} = 0{,}052 \cdot višina - 0{,}022 \cdot starost - 3{,}6$$
$$VC_{ženske} = 0{,}041 \cdot višina - 0{,}018 \cdot višina - 2{,}69$$

Enačbi predvidevata, da na vitalno kapaciteto vplivajo spol, višina in starost. Ženske imajo v splošnem manjšo vitalno kapaciteto kot moški iste velikosti, telesne mase in starosti. S starostjo vitalna kapaciteta upada.

Funkcionalna rezidualna kapaciteta je volumen zraka v pljučih, ko vse dihalne mišice sprostimo, to je na koncu normalnega izdiha. Zmotno je prepričanje, da sprostitev vseh dihalnih mišic povzroči, da iz pljuč iztisnemo ves zrak in da takrat zraka v pljučih ni. Pogled na sliko 1 nam razkrije, da ima FRK vrednost okoli 3 litre *(1)*. Tudi pri najglobljem možnem izdihu iz pljuč ne iztisnemo vsega zraka!

Poleg pljučnih volumnov in kapacitet za oceno pljučne funkcije navadno ocenimo tudi največje pljučne pretoke zraka skozi pljuča, praviloma med izdihom. Največji pretok zraka med izdihom izmerimo med t. i. forsiranim izdihom, kar pomeni, da z največjo uporabo dihalnih mišic zrak iztisnemo kar se da hitro iz pljuč. Pretok ocenimo bodisi s povprečnim pretokom v prvi sekundi forsiranega izdiha (forsiran ekspiratorni volumen v prvi sekundi (FEV1)), bodisi z največjim forsiranim pretokom (angl. *peak expiratory flow*, PEF). Običajno lahko odrasel človek z maksimalnim trudom izdiha okoli 80 odstotkov volumna vitalne kapacitete v prvi sekundi (FEV1). Ljudje z obstruktivnimi pljučnimi boleznimi, kot je npr. astma, imajo tipično povečan upor dihalnih poti. Merjenje pretokov (FEV1 ali PEF) pri takih bolnikih bi pokazale vrednosti, ki so značilno manjše od pričakovanih.

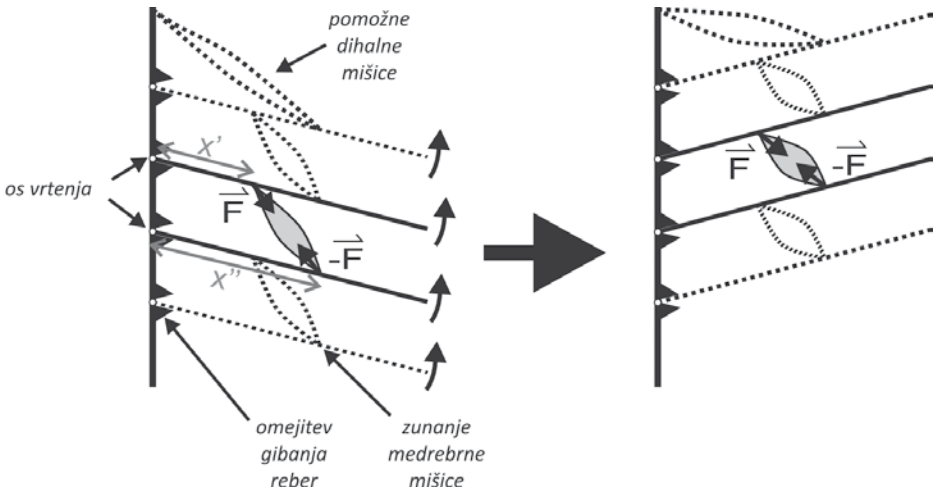
Kateri mehanizmi nam omogočajo, da pretakamo med vdihom zrak v pljuča in med izdihom zrak iz pljuč? V naslednjem delu uvoda se bomo ukvarjali z mehaniko dihanja. Dihanje nam omogočajo dihalne mišice, ki prsni koš širijo med normalnim tihim dihanjem oziroma širijo in krčijo med forsiranim dihanjem. V obeh primerih je posledica dihalnih gibov predihavanje pljučnih mešičkov in s tem izmenjava plinov. Glavne mišice, ki nam omogočajo vdih med normalnim, tihim dihanjem, so diafragma (prepona) in zunanje medrebrne mišice. Izdih je, po drugi strani, med normalnim, tihim dihanjem pasiven proces zaradi elastičnih lastnosti pljuč. Ob povečani potrebi po ventilaciji uporabimo dodatne mišice, ki pomagajo prsni koš dvigovati ob prisiljenem vdihu in spuščati ob prisiljenem izdihu.

Kako lahko pojasnimo, da skrčenje mišic povzroči razširitev prsne votline in s tem vdih? Zmotno je preprosto prepričanje, da prsni koš neposredno »raztegnejo« dihalne mišice – te se namreč, kot vse mišice, s svojim delovanjem lahko le skrajšajo in v resnici koš »razte-

gnejo« tako, da se skrčijo. Kako torej pojasnimo, da skrajšanje dihalnih mišic povzroči navidezno protislovno razširitev prsnega koša? Krčenje diafragme zaradi njene kupolaste namestitve potisne vsebino trebušne votline navzdol (in naprej) ter zato razširi pljučno tkivo in sodeluje pri vdihu. Ta pojav lahko opazujemo med normalnim, tihim dihanjem kot t. i. trebušnim dihanjem, torej periodičnim izbočenjem trebušne votline, ki je v fazi z dihalnim ritmom. Zunanje medrebrne mišice s svojim krčenjem rebra dvignejo in tako razširijo prsni koš. Nameščene so na rebrih in se pripenjajo na zgornjem rebru bližje hrbtenici (bolj proksimalno) kot na spodnjem rebru (slika 2). V katero smer se bo rebro zasukalo okoli svoje navidezne osi vrtenja (to je stik rebra z hrbtenico), določa fizikalna količina navor (M). Navor določa naslednja enačba:

$$M = F \cdot x.$$

Pri tem je F sila, ki deluje na rebro na oddaljenosti x od osi vrtenja. Skrčitev mišice povzročita sili, ki delujeta tako na zgornje kot na spodnje rebro in sta po velikosti enaki. Tako vrtenje določa x, ki je v primeru zunanjih medrebrnih mišic daljši za silo, ki je usmerjena navzgor – rebra se zasukajo navzgor. Ker je večina reber togo vpetih po celotnem obodu prsnega koša, manjši premik reber navzgor podaljša premer prsnega koša in s tem njegov volumen. Sistem vzporedno premikajočih reber dvigujejo in s tem fiksirajo pomožne dihalne mišice (nekatere vratne mišice), ki se pripenjajo na vrh prsnega koša in hrbtenico. Brez teh bi bil sistem precej manj učinkovit, saj je le tako res preprečen premik najbolj zgornjega rebra in s tem celotnega prsnega koša navzdol. Mehaniko dihanja zunanjih medrebrnih mišic in vratnih mišic prikazuje slika 2.

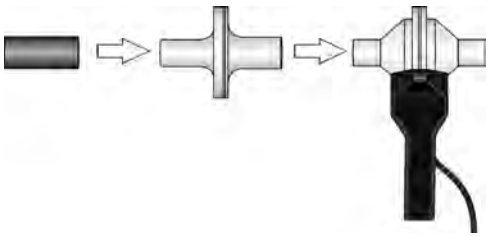


Slika 2: Mehanika dihanja zunanjih medrebrnih mišic. Shematiziran je pogled s strani na hrbtenico in štiri rebra. Na posamezno rebro skrčitev zunanjih medrebrnih mišic povzroči enako veliki sili, ki pa sta nasprotno usmerjeni. Ker je ročica sile, ki je usmerjena navzgor, daljša od ročice sile, usmerjene navzdol, se rebra ob skrčenju zavrtijo navzgor (avtor: Jurij Dolenšek).

Razširitev prsnega koša povzroči povečanje volumna pljučnih mešičkov in v njih zmanjšan barometrski tlak. Tako nastane tlačni gradient med relativno večjim barometrskim tlakom v zunanjosti (na mestu vstopa zraka v pljuča) glede na zmanjšan tlak v pljučnih alveolih. Tlačni gradient povzroči vdor zraka v pljučne alveole. Zmotno je prepričanje, da se prsni koš razširi, ker vanj vdre zrak. V resnici je vzročna povezava ravno nasprotna: širjenje prsnega koša povzroči vdor zraka v pljuča, in ne nasprotno.

Predstavitev izvedbe

1. Priključite spirometer na Vernierjev računalniški vmesnik. Odprite datoteko *»19 Pljučni volumni«*.
2. Nataknite bakteriološki filter na spirometer. Pazite, da je stran z večjim premerom cevke filtra obrnjena proti spirometru. Nataknite ustnik za enkratno uporabo na drugo stran bakteriološkega filtra. Tisti, ki prebolevajo okužbo dihal ali pa so jo nedavno preboleli, naj pri vaji ne sodelujejo!



Slika 3: Način priključitve ustnika in filtra na spirometer.

3. Kalibrirajte spirometer: trdno držite spirometer in ga ne premikajte. Naj bo orientiran vertikalno. Kliknite *»0 zero«*.
4. Izvedite meritev:
   a) Preprečite uhajanje zraka skozi nos tako, da nos zaprete z nosno ščipalko. Oseba, pri kateri boste izvedli meritev, naj nekaj časa prosto diha z nosno ščipalko, da se privadi dihanju skozi usta.
   b) Začnite meriti tako, da kliknete *»Collect«*.
   c) Izvedite dihalni manever v nekaj korakih. Najprej nekajkrat (približno štirikrat) normalno vdihnite in izdihnite. Maksimalno zajemite zrak v pljuča (pazite na to, da se res maksimalno potrudite in uporabite dodatne dihalne mišice) in nato iz pljuč izdihnite največ zraka, kot ga lahko (tudi tu pazite na to, da se potrudite najbolj, kar gre, in uporabite dodatne dihalne mišice). Po tem manevru posnemite še nekaj normalnih dihalnih ciklov.
   d) Meritev ustavite s klikom na *»Stop«*.
5. Premaknite se na novo stran v dokumentu s klikom na ikono *»Next Page«*, na kateri lahko vidite rezultat meritve. Prikazan je volumen izdihanega zraka v odvisnosti od merjenega časa.
6. Izmerite dihalni volumen. Izberite reprezentativni dihalni cikel v območju normalnega dihanja. Premaknite drsnik na največjo točko (vrh) krivulje in ga povlecite do najmanjše točke (doline), ki sledi. Odčitajte vrednost Δy v levem spodnjem kotu grafa in jo zapišite kot dihalni volumen v tabelo. Meritev zaokrožite na 0,1 litra.
7. Izmerite inspiratorni rezervni volumen. Premaknite drsnik na vrh krivulje med največjim vdihom. Drsnik potegnite do nivoja vrhov med normalnim dihanjem. Odčitajte vrednost Δy v levem spodnjem kotu grafa in jo zapišite kot inspiratorni rezervni volumen v tabelo. Meritev zaokrožite na 0,1 litra.
8. Izmerite ekspiratorni rezervni volumen. Premaknite drsnik na dolino na krivulji med največjim izdihom. Drsnik potegnite do nivoja vrhov med normalnim dihanjem. Odčitajte vrednost Δy v levem spodnjem kotu grafa in jo zapišite kot ekspiratorni rezervni volumen v tabelo. Meritev zaokrožite na 0,1 litra.

9. Izračunajte vitalno kapaciteto po naslednji enačbi:

$$VK = DV + IRV + ERV,$$

pri čemer VK pomeni vitalno kapaciteto, DV dihalni volumen, IRV inspiratorni rezervni volumen in ERV ekspiratorni rezervni volumen. Rezultat vnesite v preglednico.

10. Izračunajte totalno pljučno kapacito. Za izračun predvidite rezidualni volumen 1 liter (tega volumna s spirometrijo sicer ne moremo izmeriti, zato predvidimo tipično vrednost za odraslega moškega). Uporabite naslednjo enačbo:

$$TPK = VC + RV,$$

pri čemer TPK pomeni totalno pljučno kapaciteto in RV rezidualni volumen. Rezultat vnesite v preglednico.

11. Posebej izračunajte povprečno vrednost med sošolci in sošolkami. Rezultate vnesite v preglednico 1.

Preglednica 1: Vanjo vnašamo rezultate izmerjenih in izračunanih pljučnih volumnov.

Volumen (litri)	**Posameznik**	**Povprečje v razredu (fantje)**	**Povprečje v razredu (dekleta)**
Dihalni volumen			
Inspiratorni rezervni volumen			
Ekspiratorni rezervni volumen			
Vitalna kapaciteta			
Rezidualni volumen *(vrednost predpostavimo)*	1 liter	1 liter	1 liter
Totalna pljučna kapaciteta			

Primerjajte vrednosti posameznika z referenčnimi vrednostmi v preglednici 2. Primerjajte povprečne vrednosti fantov v razredu z vašo meritvijo. Primerjavo naredite tudi za dekleta.

Zakaj pričakujete večje vrednosti pri fantih kot pri dekletih? Ali pričakujete zmanjšanje vrednosti s starostjo? Utemeljite.

Katere vrednosti dihalnih volumnov pričakujete močno povečane pri atletih in katere močno zmanjšane pri zelo debelih ljudjeh? Utemeljite.

Preglednica 2: Referenčne vrednosti pljučnih volumnov.

Volumen (litri)	**Moški**	**Ženske**
Dihalni volumen	0,6 l	0,5 l
Inspiratorni rezervni volumen	3,2 l	2,9 l
Ekspiratorni rezervni volumen	1,8 l	1,6 l
Vitalna kapaciteta	5,6 l	5 l
Rezidualni volumen *(vrednost predpostavimo)*	1 liter	1 liter
Totalna pljučna kapaciteta	7 l	6,2 l

2.3.13 Dihalni odziv na spremembe vsebnosti plinov v krvi

Dr. Jurij Dolenšek, Inštitut za fiziologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Mariboru

Kratek povzetek

Dihanje je uravnano glede na vsebnost oziroma delni tlak plinov v krvni plazmi in glede na pH krvne plazme. Največji vpliv na mehanizme regulacije ima ogljikov dioksid. Pri vaji bomo kratkotrajno vplivali na delni tlak CO_2 v krvni plazmi tako, da bomo zadrževali dih. Telo se na povečanje CO_2 odzove s kompenzatornim odzivom, ki ga bomo izmerili. Delovanje dihalnih centrov v podaljšani hrbtenjači se refleksno poveča. Nevroni v podaljšani hrbtenjači vplivajo na dihalni ritem, povečata se globina in frekvenca dihanja. S kompenzatornim odzivom povzročena ventilacija poveča izplavljanje CO_2 iz krvne plazme in ponovno uravna raven CO_2 v krvni plazmi in s tem pH krvne plazme.

Trajanje

V obliki demonstracijske vaje (le ena meritev na učenca): ena ura

V obliki vaje (vsak učenec izvede meritev, primerjava rezultatov): več kot dve uri

Povezava z biološkimi koncepti in cilji

- B – Raziskovanje in poskusi
- F4 – Zgradba in delovanje človeka in drugih živali (F4-44, F4-45, F4-77, F4-78)
- N – Fiziologija človeka (N-3, N-6, N-7, N-8)
- L – Kako deluje znanost (L8, L11 in L12)

Procesni cilji

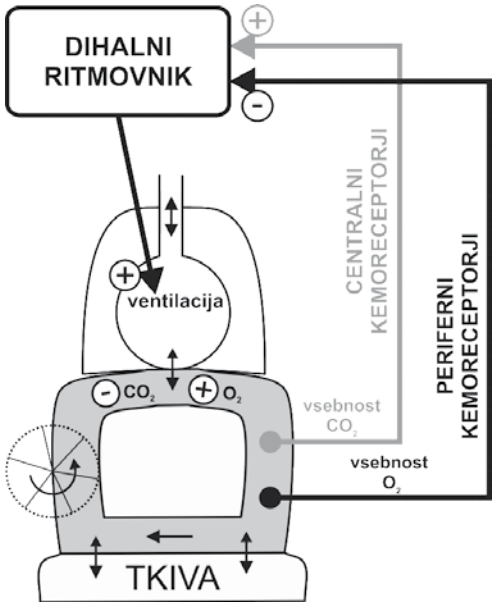
P1-P4 in P11-P17

Medpredmetne povezave in potrebna predznanja drugih predmetov:

- *fizika, matematika, kemija*

Uvod

Nadzor nad ventilacijo je v človeškem telesu organiziran tako, da osnovni ritem dihanja določajo centralni ritmovniki (slika 1).



Slika 1: Dihanje je uravnano s sistemi negativnih povratnih zank. Dihalni ritmovnik določa ventilacijo pljučnih mešičkov tako, da določa dejavnost dihalnih mišic. Ventilacija pljučnih mešičkov izplavlja CO_2 iz krvne plazme in tako niža njegovo vsebnost v plazmi. Po drugi strani pa ventilacija mešičkov omogoča prenos O_2 v krvno plazmo in tako njegovo vsebnost v krvni plazmi veča. Vsebnost CO_2 zaznavajo centralni kemoreceptorji. Ko ta naraste, delovanje kemoreceptorjev spodbudi dihalni ritmovnik in poveča ventilacijo. Ta poveča izplavljanje CO_2 in povrne njegovo vsebnost na normalno raven. Na hitrost ventilacije vpliva zmanjšanje vsebnosti O_2 v krvni plazmi. V tem primeru delovanje perifernih kemoreceptorjev prav tako povzroči kompenzatorno povečanje ventilacije pljučnih mešičkov (avtor: Jurij Dolenšek).

Osnovni dihalni ritem je nezaveden in znaša med normalnim dihanjem v mirovanju okoli 12–20 dihalnih ciklov na minuto. Določen je z nevroni v podaljšani hrbtenjači, ki jih imenujemo dihalni ritmovnik. Delovanje dihalnega ritmovnika določajo inspiratorni nevroni dorzalnega respiratornega centra podaljšane hrbtenjače. Njihova ritmična depolarizacija določa ritem krčenja trebušne prepone in s tem dihalni ritem. Tega pa, prav tako nezavedno, spreminjamo glede na presnovne potrebe, ki se zaznavajo v obliki sprememb vsebnosti CO_2 in O_2 v krvni plazmi. Seveda lahko dihalni ritem spreminjamo tudi zavedno, predvsem ob občasnih vedenjih, ki niso namenjena ventilaciji pljučnih mešičkov. Primeri takšnih vedenj so govorjenje, hoteno kašljanje in hranjenje.

Na dihanje močno vpliva vsebnost CO_2 v krvni plazmi. Kako lahko opišemo vsebnost plinov v krvni plazmi? Na prvi pogled bi se zdelo smiselno opisovati koncentracijo raztopljenega plina, vendar se v fiziologiji za opis vsebnosti plinov v krvni plazmi pogosto uporablja pojem delnega (parcialnega) tlaka določenega plina (npr. O_2, CO_2). Delni tlak plina x (P_x) je del tlaka, ki ga k skupnemu tlaku plinske mešanice prispeva plin x:

$$P_x = F_x \cdot P_{BAR.}$$

pri čemer F_x pomeni volumski oziroma molski delež plina v plinski mešanici pri atmosferskem tlaku (P_{BAR}). Pri fiziologiji pljuč uporabljamo nestandardne enote za tlak, in sicer bodisi milimetre živega srebra (mmHg) ali centimetre vode (cmH_2O). Uporabna konverzija enot je:

$$1 \text{ atm } = 1{,}013 \text{ bar } = 101{,}3 \text{ kPa } = 1033\, cm\ H_2O = 760 \text{ mmHg}$$

V poenostavljeni različici velja:

$$1atm \approx 1\ bar \approx 1000\ cm\ H_2O \approx 760 \text{ mmHg}$$

Izračunajmo, kakšni so delni tlaki za O_2 in CO_2 (P_{O_2}, P_{CO_2}) v zraku v naši okolici. Upoštevajmo molski delež O_2 ($F_{O_2} = 0{,}21$) in CO_2 ($F_{CO_2} = 0{,}0003$), nadmorsko višino 0 metrov in uporabimo zgoraj napisano enačbo:

$$P_{O_2} = 0{,}21 \cdot 760\ mm\ Hg = 160\ mmHg$$

$$P_{CO_2} = 0{,}0003 \cdot 760\ mm\ Hg = 0{,}2\ mmHg \cong 0\ mmHg$$

Opazimo lahko, da je zaradi malega deleža CO_2 v zraku njegov P_{CO_2} praktično enak 0.

Vzdolž prevodnih delov dihalnih poti do pljučnih mešičkov, kjer poteka večina izmenjave plinov, se zrak navlaži in segreje. V plinski mešanici v sapniku moramo zato upoštevati še delež vode (P_{H_2O}). P_{H_2O} je odvisen od temperature in pri 37 °C doseže vrednost približno 47 mmHg. Zgoraj so upoštevani deleži O_2 in CO_2 suhega zraka, zdaj to upoštevajmo v zgornji enačbi in izračunajmo P_{O_2} in P_{CO_2} za vlažen zrak, kot ga najdemo v sapniku (P_{ITO_2}):

$$P_{ITO_2} = 0{,}21 \cdot (760 - 47)\ mm\ Hg = 150\ mmHg$$

$$P_{ITCO_2} = 0{,}0003 \cdot (760 - 47)\ mm\ Hg = 0{,}2\ mmHg \cong 0\ mmHg$$

Kakšna je prednost uporabe delnih tlakov v primerjavi z uporabo koncentracije raztopljenega plina? Predvsem lahko z delnim tlakom opišemo količino plinov tako v plinski (v mešičkih in sapniku) kot v tekočinski fazi (koncentracija plina, prosto raztopljenega v krvi). Če si predstavljamo, da je nad tekočino plinska mešanica z znanimi delnimi tlaki, v stacionarnem stanju lahko zapišemo koncentracijo v tekočini prosto raztopljenega plina kot:

$$[plina]_{raztopljen} = P_{plina} \cdot s$$

pri čemer je P_{plina} delni tlak plina nad tekočino in s topnostni koeficient plina.

Kakšni so parcialni tlaki plinov v pljučnih mešičkih? Delni tlak določenega plina v alveolih določajo barometrski tlak, sestava vdihanega zraka, hitrost nastajanja oziroma porabe plina v metabolizmu, alveolna ventilacija (AV) in razmerje med AV in perfuzijo (Q) pljuč. AV je del pljučne ventilacije, ki doseže pljučne mehurčke in je na voljo za izmenjavo plinov v krvi, Q pa pretakanje krvi skozi pljučno žilje.

Vseh pet pojavov upošteva alveolna enačba, s pomočjo katere lahko izračunamo parcialni tlak CO_2:

$$P_{ACO_2} = \frac{\dot{V}_{CO_2}}{AV} \cdot P_{BAR}$$

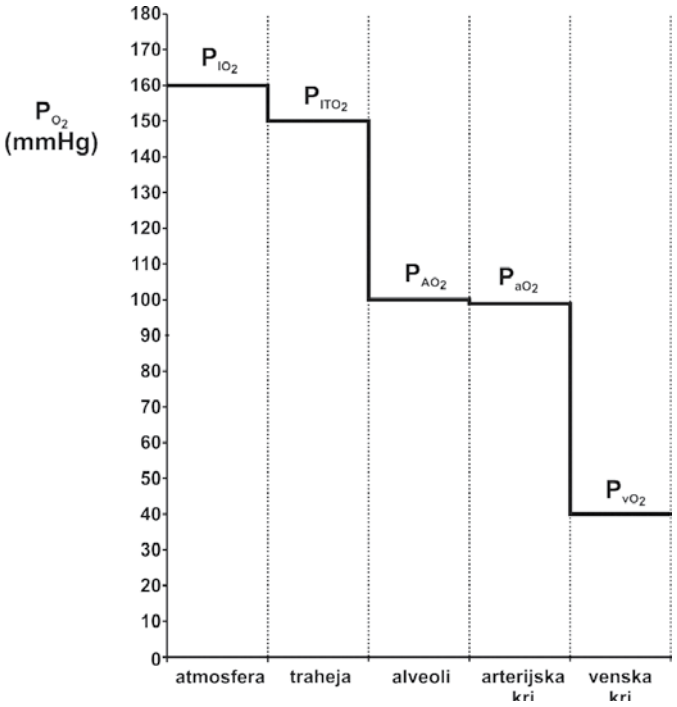
pri čemer pomeni parcialni tlak CO_2 v alveolih, $\frac{\dot{V}_{CO_2}}{AV}$ razmerje med hitrostjo nastajanja CO_2 v metabolizmu in alveolno ventilacijo, P_{BAR} pomeni barometrski tlak.

Alveolna enačba, ki opisuje P_{O_2} v alveolih, se razlikuje od prejšnje enačbe:

$$P_{AO_2} = P_{ITO_2} - \frac{\dot{V}_{O_2}}{AV} \cdot P_{BAR}$$

pri čemer P_{ACO_2} pomeni parcialni tlak O_2 v alveolih, pomeni parcialni tlak O_2 v traheji (izračunali smo ga zgoraj), $\frac{\dot{V}_{O_2}}{AV}$ razmerje med hitrostjo porabe O_2 v metabolizmu in alveolno ventilacijo, P_{BAR} pomeni barometrski tlak.

Vrednosti parcialnih tlakov za O_2 lahko odčitamo iz slike 2. P_{O_2} v atmosferi (160 mmHg) in v traheji (150 mmHg) smo izračunali zgoraj. P_{O_2} v alveolih odčitamo iz grafa: 100 mmHg. Za CO_2 je vrednost parcialnega tlaka v alveolih 40 mmHg.



Slika 2: Vrednosti delnih tlakov vzdolž poti O_2 v človeškem telesu. V sapniku je P_{O_2} manjši kot v atmosferskem zraku na račun vodne pare. V alveolih je manjši zaradi prehajanja O_2 v kri in privzemanja CO_2 v alveole. V arterijski krvi je P_{O_2} manjši zaradi različnega razmerja AV/Q v različnih delih pljuč. V venski krvi se P_{O_2} zniža zaradi porabe v perifernih tkivih. P_{O_2} – delni tlak O_2, P_{IO_2} – delni tlak O_2 v vdihanem zraku, P_{ITO_2} – delni tlak O_2 v sapniku, P_{AO_2} – delni tlak O_2 v alveolih, P_{aO_2} – delni tlak O_2 v arterijski krvi, P_{vO_2} – delni tlak O_2 v venski krvi.

Kakšne pa so vrednosti parcialnih tlakov v arterijski in venski krvi? Tlaki v arterijski krvi so skoraj enaki tlakom v pljučnih alveolih (100 mmHg), saj difuzija plinov preko alveolo-krvne bariere običajno ni omejujoč korak. Iz slike 2 pa lahko opazimo, da je vrednost P_{O_2} v arterijski krvi za nekaj mmHg manjša, kot je v alveolih. Vzrok za to odstopanje ni v difuzijski omejitvi, kot bi morda sklepali na prvi pogled, temveč je vzrok v pokončni drži človeškega telesa. Gravitacijska sila različno učinkuje vzdolž pljuč v vertikalni smeri, posledica je neenakomerno razmerje med ventilacijo in perfuzijo pljuč v vertikalni smeri. Neenakomerno razmerje povzroči suboptimalen prenos kisika in zmanjšanje P_{O_2} v arterijski krvi, ki pljuča zapušča. V venski krvi je P_{O_2} enak 40 mmHg, saj se je P_{O_2} venske krvi izenačil s P_{O_2} v perifernih tkivih (s prehodom O_2 v periferna tkiva).

Človeško telo je sposobno zaznati P_{CO_2} in P_{O_2}, in sicer s skupki celic v podaljšani hrbtenjači in ob velikih žilah.

Celice v več jedrih podaljšane hrbtenjače, ki so sposobne zaznati vsebnost CO_2 v zunajceličnem prostoru, imenujemo centralni kemoreceptorji. Ti kemoreceptorji so primarno občutljivi na povečanje P_{CO_2} v arterijski krvi in z njo povezano zakisanje arterijske krvne plazme. Ne odzovejo se na spremembo vsebnosti O_2. Telo je zelo občutljivo na spremembo P_{CO_2} v arterijski krvi – ventilacija pljučnih mešičkov se močno poveča že ob majhnem porastu P_{CO_2} (že za nekaj mmHg manjša vrednost od normalne vrednosti 40 mmHg).

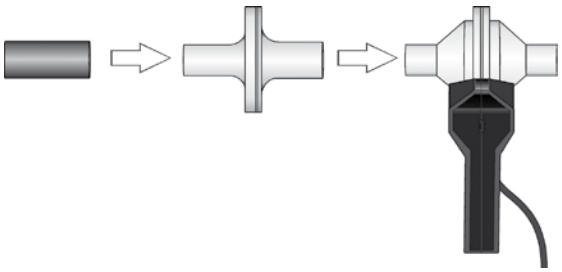
Celice, ki so sposobne zaznavati vsebnost O_2 v krvni plazmi, so v organih na stenah žil, ki prekrvljajo glavo (karotidna arterija) in telo (aortni lok) in jih imenujemo glomusi. Zaradi svoje namestitve in narave odziva jih imenujemo periferni kemoreceptorji. Odzovejo se najbolj na znižanje P_{O_2} v krvi, medtem ko je odziv na zvišanje P_{CO_2} nekajkrat manjše kot na P_{O_2}. Ventilacija se močno poveča šele takrat, ko P_{O_2} v arterijski krvi pade pod 50 mmHg (spomnimo se, normalna vrednost je 100 mmHg). Kaj je razlog za to navidezno toleranco na znižanje P_{O_2}? Večina kisika v krvi se prenaša vezanega na hemoglobin, tako je koncentracija kisika v krvi odvisna od koncetracije hemoglobina in njegove saturacije s kisikom (deležem molekul, ki imajo vezan kisik; delež je odvisen od P_{O_2}). Saturacija hemoglobina s kisikom je pri vrednosti P_{O_2} 100 mmHg skoraj enaka kot pri P_{O_2} 60 mmHg.

Učni list 1

Dihalni odziv na spremembe v vsebnosti plinov v krvi

Predstavitev izvedbe

1. Priključite spirometer na Vernierjev računalniški vmesnik. Odprite datoteko *»20 Respiratorni odziv«*.
2. Namestite bakteriološki filter na spirometer. Pazite, da je stran z večjim premerom cevke filtra obrnjena proti spirometru. Nataknite ustnik za enkratno uporabo na drugo stran bakteriološkega filtra. Osebe, ki prebolevajo okužbo dihal ali pa so jo nedavno prebolele, naj pri vaji ne sodelujejo!



Slika 1: Način priključitve ustnika in filtra na spirometer.

3. Kalibrirajte spirometer: trdno držite spirometer in ga ne premikajte. Naj bo orientiran vertikalno. Kliknite *»0 zero«*.
4. Izvedite meritev:
   a) Preprečite uhajanje zraka skozi nos, tako da nos zaprete z nosno ščipalko. Oseba, pri kateri boste izvedli meritev, naj nekaj časa prosto diha z nosno ščipalko, da se privadi dihanju skozi usta.
   b) Začnite meriti tako, da kliknete *»Collect«*.
   c) Izvedite naslednji dihalni manever v nekaj korakih. Najprej nekajkrat (približno štirikrat) normalno vdihnite in izdihnite. Zajemite zrak v pljuča in zadržite dih za 40 sekund. Po tem manevru posnemite še nekaj (približno deset) normalnih dihalnih ciklov.
   d) Po 120 sekundah se merjenje samodejno ustavi.
5. Premaknite se na novo stran v dokumentu s klikom na ikono *»Next Page«*, na kateri lahko vidite rezultat meritve. Prikazan je volumen izdihanega zraka v odvisnosti od merjenega časa.
6. Izmerite dihalni volumen pred zadržanim dihom. Izberite reprezentativni dihalni cikel v območju normalnega dihanja pred zadržanih dihom. Premaknite drsnik na največjo točko (vrh) krivulje in ga povlecite do najmanjše točke (doline), ki sledi. Odčitajte vrednost Δy v levem spodnjem kotu grafa in jo zapišite kot dihalni volumen pred zadržanih dihom v preglednico 1. Meritev zaokrožite na 0,1 litra.
7. Ocenite frekvenco dihalnega cikla pred zadržanih dihom. Na prej izbranem reprezentativnem dihalnem ciklu postavite drsnik na vrh krivulje in jo povlecite do vrha sledečega dihalnega cikla. Odčitajte vrednost Δx v levem spodnjem kotu grafa. Ocenite frekvenco dihanja v obliki števila vdihov v minuti z uporabo naslednje enačbe:

$$frekvenca\ (\frac{1}{min}) = \frac{60}{\Delta x}\ .$$

Vrednost zaokrožite na 0,1 vdiha/minuto in jo vpišite v preglednico.

8. Izmerite dihalni volumen v času, ko ste ponovno dihali po zadržanem dihu. Ponovite korak 6, a izberite področje v posnetku, ki ustreza ponovnemu dihanju po zadržanem dihu. Rezultat vpišite v preglednico.

9. Ocenite frekvenco dihalnega cikla v času, ko smo ponovno dihali po zadržanem dihu. Ponovite korak 7, a izberite področje v posnetku, ki ste ga izbrali v koraku 8. Rezultat vpišite v preglednico.

10. Izračunajte minutni volumen (volumen zraka na časovno enoto – pretok, ki smo ga s pljuči pretočili) pred zdržanim dihom in po njem. Uporabite naslednjo enačbo:

$$minutni\ volumen\ \left(\frac{l}{min}\right) = dihalni\ volumen\ (l) \cdot frekvenca\ dihalnega\ cikla\ (\frac{1}{min})\ .$$

Rezultat zaokrožite na 0,1 l/min in vpišite v preglednico.

Preglednica 1: Vanjo vnašamo rezultate pljučnih volumnov, frekvenc dihalnih ciklov in minutnih volumnov.

	Normalno	**Med dihanjem po zadržanem dihu**
Dihalni volumen (liter)		
Frekvenca dihalnega cikla (št. vdihov/minuto)		
Minutna ventilacija (litrov/minuto)		

Če ste meritev izvedli sproščeno, dihalni volumni normalno dosegajo vrednosti okoli 0,5 litra, frekvenca dihanja pa je približno 12–15 dihalnih ciklov na minuto (ne na sekundo!). Kakšne vrednost ste izmerili vi? Če so vrednosti značilno večje ali manjše, kaj menite, da je razlog? V slednjem primeru meritev ponovite.

Minutno ventilacijo ste izračunali tako, da ste zmnožili izmerjeni dihalni volumen in frekvenco dihanja. Normalna minutna ventilacija je okoli 6–7 litrov/minuto. Kakšno vrednost ste vi izmerili? Ali pričakujete velike razlike med fanti in dekleti? Upoštevajte, da bodo razlike med spoloma bolj očitne pri fizičnih naporih.

Kakšen je bil kompenzatorni odziv vašega telesa po zadržanem dihu? Kako sta se spremenila dihalni volumen in frekvenca dihanja glede na vrednosti normalno? Kako pa minutna ventilacija glede na normalno? Utemeljite, zakaj je odziv telesa takšen, da poveča minutno ventilacijo!

Kakšen bi bil naš komenzatorni odziv, če bi predihavali isti zrak (npr. v vrečki)? Kakšen pa, če bi za kratek čas dihali več, kot telo zahteva (hiperventilacija)? Kako si pomagajo potapljači na dah, da lahko dalj časa zdržijo pod gladino? Utemeljite mehanizem!

Pri visokih nadmorskih višinah (npr. na Mt. Everestu) je dihanje prav tako pospešeno in globlje. V tem primeru je to kompenzatorni odziv na zmanjšan delni tlak kisika v zraku na visokih nadmorskih višinah. V literaturi poiščite, kako kisik vpliva na minutno ventilacijo.

Priporočena literatura in viri

1 *Boron, W. F., Boulpaep, E. L. (2009). Medical physiology: a cellular and molecular approach, 2nd ed. Philadelphia: Elsevier Saunders.*

2 *Hall, J. E. (2011). Guyton and Hall Textbook of medical physiology, 12th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier.*

3 *Ribarič, S. (ur.) (2008). Seminarji iz patološke fiziologije, 1. izd. Ljubljana: Medicinska fakulteta, Inštitut za patološko fiziologijo.*

4 *Ribarič, S. (ur.) (2012). Seminarji iz patološke fiziologije, 2. izd. Ljubljana: Medicinska fakulteta, Inštitut za patološko fiziologijo.*

5 *Stožer, A., Dolenšek, J., Marjan, R. (2012). Fiziologija pljuč, 1. del. Medicinski razgledi, 2012/3-4/02.*

6 *Stožer, A., Dolenšek, J., Marjan, R. (2012). Fiziologija pljuč, 2. del. Medicinski razgledi, 2012/3-4/03.*

7 *Stožer, A., Dolenšek, J., Marjan, R. (2012). Fiziologija pljuč, 3. del. Medicinski razgledi, 2012/3-4/04.*

8 *Stožer, A., Križančić Bombek, L., Dolenšek, J., Skelin, M. (2012). Izbrana poglavja iz fiziologije za študente medicine: z navodili za vaje, 1. izd. Maribor: Medicinska fakulteta.*

9 *Stocks, J., Quanjer, P. H. (1995). Reference values for residual volume, functional residual capacity and total lung capacity. European Respiratory Society, 8, 492 (Mar, 1995).*

10 *West, J. B. (2005). Respiratory physiology: The essentials, 7th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.*

2.3.14 Prenos kisika s pljučnim dihanjem

Dr. Jurij Dolenšek, Inštitut za fiziologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Mariboru

Povzetek

Aerobni organizmi nenehno porabljamo kisik. Kisik uporabljamo pri oksidativnem metabolizmu, s katerim iz hranil pridobivamo energijo. V primeru ljudi kot modelnega organizma se kisik do tarčnih tkiv prenaša večinoma vezan na hemoglobin v krvi. Hemoglobin se oksigenira (vezava kisika) v pljučnih kapilarah, kjer pride do dvosmerne izmenjave plinov: kisik potuje iz smeri pljučnih mešičkov v kri, medtem ko se ogljikov dioksid v prostor pljučnih mešičkov sprošča iz krvi. Med vajo bomo izmerili porabo kisika in meritev uporabili za izračun hitrosti porabe kisika med bazalnim metabolizmom.

Trajanje

V obliki demonstracijske vaje (le ena meritev na učenca): ena ura
V obliki vaje (vsak učenec izvede meritev, primerjava rezultatov): več kot dve uri

Povezava z biološkimi koncepti in cilji

- B – Raziskovanje in poskusi
- F4 – Zgradba in delovanje človeka in drugih živali (F4-44, F4-45, F4-77, F4-78)
- N – Fiziologija človeka (N-3, N-6, N-7, N-8)
- L – Kako deluje znanost (L8, L11 in L12)

Procesni cilji

P1-P4 in P11-P17

Medpredmetne povezave in potrebna predznanja drugih predmetov

- *fizika, matematika, kemija*

Uvod

Dihalni sistem izvaja pljučno (zunanje) dihanje. To v sodelovanju z obtočili zagotavlja kisik (O_2), ki se porablja v celičnem (notranjem) dihanju, in odstranjuje ogljikov dioksid (CO_2), ki pri notranjem dihanju nastaja. Transport plinov – kisika iz atmosfere do tkiv in ogljikovega dioksida od tkiv do atmosfere – vključuje dva konvektivna in dva difuzijska procesa[10]. Konvektivna prenosa plinov sta alveolna ventilacija in perfuzija, difuzija pa poteka skozi alveolokapilarno membrano in po kapilarah perifernih tkiv.

Zrak, ki ga vdihnemo, potuje po dihalnih poteh do alveolov. Na tej poti se v dihalnih poteh relativno majhna prostornina zraka najprej segreje in zasiči z vlago, v alveolih pa se pomeša z relativno veliko prostornino plinske zmesi. Ta zmes v primerjavi s plinsko zmesjo zraka vsebuje manj kisika in mnogo več ogljikovega dioksida. Tako med dihanjem med atmosfero in alveolno plinsko zmesjo razmeroma hitro izmenjujemo sorazmerno majhno prostornino, zato se sestava alveolnega zraka skoraj ne spreminja. Namen dihanja je torej ustvarjanje skoraj stalnega pretoka kisika iz alveolov v deoksigenirano (vensko) kri ter pretoka ogljikovega dioksida iz venske krvi v alveole.

Za kaj se porablja kisik, ki se pretoči v vensko kri? Kisik človeško telo uporablja pri oksidativnem metabolizmu. Gre za metabolne reakcije, s katerimi pretvorimo kemično energijo v molekulah hranil v ATP, energijsko bogato molekulo, ki jo celice lahko uporabijo pri lastnem metabolizmu. V prvem koraku večje molekule razbijemo na manjše, največkrat do piruvata. Ta vstopi v mitohodrije, kjer se dokončno oksidira do ogljikovega dioksida v Krebsovem ciklu. Energijsko bogate molekule NADH in FADH2, ki poleg ATP nastajajo v Krebsovem ciklu, se nadalje v procesu oksidativne fosforilacije uporabijo za sintezo molekul ATP. Oksidacijo glukoze lahko opišemo z naslednjo zbirno kemično enačbo:

$$C_6H_{12}O_6 + 6\ O_2 \rightarrow 6\ CO_2 + 6\ H_2O + 674\ \text{kcal}$$

Za oksidacijo 1 mola (180 g) glukoze porabimo 6 molov (135 litrov) kisika. Pri tem nastane 6 molov (135 litrov) ogljikovega dioksida, 6 molov (108 g ali približno 1 dl) vode in 674 kcal energije. Normalna poraba kisika človeškega telesa je okoli 250 ml na minuto. Seveda pa je poraba kisika odvisna od telesne dejavnosti osebe. Pri povečani telesni dejavnosti je metabolizem mišičnih celic in s tem poraba kisika povečana. Med maksimalno vadbo se lahko poraba kisika poveča za več kot desetkrat.

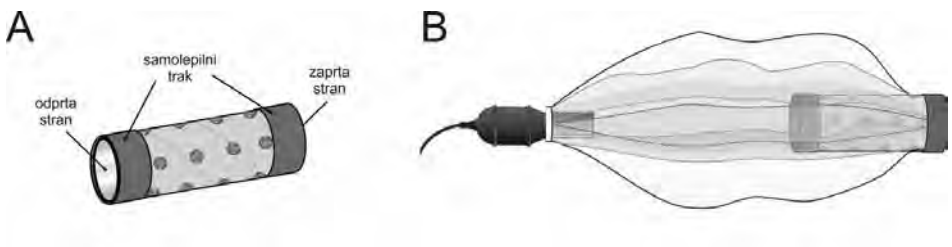
[10] *Konvekcija je prenašanje toplote v tekočinah in plinih z gibanjem snovi. Difuzija po drugi strani pomeni spontano gibanje v mešanicah plinov, raztopinah in suspenzijah, pri katerem se molekule in drugi delci v povprečju gibljejo v smeri nižje koncentracije in se zaradi tega enakomerno razporedijo v razpoložljivi prostornini, s čimer se doseže ravnovesno stanje.*

Učni list 1

Prenos kisika s pljučnim dihanjem

Predstavitev izvedbe

1. Najprej pripravite potrebne pripomočke za merjenje deleža kisika v plinski mešanici. Pripravite kartonasti tulec, na katerega so bile navite papirnate brisače. Skrajšajte ga na približno 15 cm.
2. Tulec z ostro konico škarij naluknjajte na toliko lukenj, da bo omogočen pretok zraka (slika 1)



Slika 1: A: Tulec, na katerega so bile navite papirnate brisače, s konico škarij naluknjajte. S samolepilnim trakom zaprete eno stran, drugo stran oblepite, ne da bi jo zaprli. Ta bo za ustnik. B: Tulec vtaknite v PVC-vrečko tako, da je stran z ustnikom usmerjena nazven. Zaprto stran vrečke preluknjajte in namestite merilec porabe O_2.

3. Uporabite samolepilni trak, da neprodušno zaprete eno stran tulca.
4. Na drugi strani tulca odprtino oblepite s samolepilnim trakom. Trak bo uporabljen kot ustnik, da se karton ne lepi na ustnice.
5. Uporabite 5–10 litrsko PVC -vrečko. Na odprti del vrečke z gumico pritrdite odprti del tulca tako, da je tulec v vrečki.
6. Zaprti del vrečke preluknjaje in pritrdite O_2 senzor v vrečko. Uporabite samolepilni trak ali gumico. Iz vrečke izpraznite ves zrak.
7. Priključite spirometer na Vernierjev računalniški vmesnik. Odprite datoteko *»23 O_2 Extraction«*.
8. Rahlo držite tulec na delu, kjer je gumica (oz. samolepilni trak), vrečka s senzorjem naj visi.
9. Preverite meritev deleža kisika. Vrednosti naj bodo 20–22 %. Če vrednosti ne izmerite, odstranite tulec in dobro prezračite vrečko in senzor. Ponovno odstranite ves zrak iz vrečke.

Zaprti sistem

10. Izvedite meritev v t. i. **zaprtem sistemu**. Pozneje bomo meritev ponovili, a takrat drugače, v odprtem sistemu.
11. Začnite meriti tako, da kliknete *»Collect«*.

12. Izvedite naslednji dihalni manever v nekaj korakih. Zajemite polna pljuča atmosferskega zraka (ne uporabljajte tulca) in zadržite dih za 10 sekund. Skozi tulec izdihnite ves zrak v vrečko in zadržite dihanje za 10 sekund (tulca ne odmikajte od ust). Ponovite zadnja koraka (vdih 10 sekund, izdih 10 sekund) še trikrat tako, da predihavate celoten zrak v vrečki. Vsak vdih ali izdih naj bo kar se da največji – tako bodo vsi dihalni volumni med manevrom enaki. Končajte dihalni manever z izdihom.
13. Po 80 sekundah se merjenje samodejno ustavi.
14. Določite delež kisika v vrečki po vsakem izdihu.
    a) Kliknite in povlecite drsnik prek področja pred prvim izdihom. Ta del nam bo izmeril vsebnost kisika v okoljskem zraku. Na vmesniku Vernier uporabite jeziček Analiza, nato izberite Statistika in potrdite izbrani graf. Odčitajte povprečno vrednost in jo zapišite v preglednico.
    b) Kliknite in povlecite drsnik prek področja, kjer je bil posnet konec prvega izdiha v vrečko. Tako bomo ocenili vsebnost kisika v izdihanem zraku po 20 sekundah porabe kisika. Tudi tokrat z uporabo statističnega pripomočka odčitajte povprečno vrednost in jo zapišite v preglednico.
    c) Ponovite korak b še trikrat (za 2., 3. in 4. dihalni cikel) in rezultat zapišite v preglednico 1.
15. Izračunajte razliko v deležu kisika v plinski mešanici v zraku v vrečki po vsakem izdihu in rezultate zapišite v preglednico 1.
16. Izračunajte deleže, za kolikor se je vsebnost kisika zmanjšala z vsakim izdihom. Rezultate vnesite v preglednico 1.
17. Ocenite prostornino zraka v vrečki po zadnjem izdihu. Lahko jo ocenite na preprost način s prostornino vode, ki jo zrak izpodrine. Po zadnjem izdihu vrečko nepredušno zaprite na strani tulca in na strani senzorja za kisik. Ne dovolite zraku, da bi izšel iz vrečke. Previdno odstranite tulec in senzor za kisik. Zaprto vrečko potopite v posodo, napolnjeno z vodo. Na posodi označite, za koliko se je dvignila gladina vode. Vrečko odstranite. Z drugo posodo, ki ima merilne oznake, dolijte toliko vode, da dosežete prej označen nivo vode. Zapišite prostornino vode, ki ste jo morali doliti. Ta prostornina ustreza dihalnemu volumnu. Rezultat zapišite v preglednico.
18. Izračunajte porabo kisika.
    a) Uporabite izračunane razlike v deležih vsebnosti kisika v vrečki in izmerjen volumen zraka v vrečki v naslednji enačbi:

$$\dot{V}_{O_2} = \frac{(V - MP) \cdot \Delta F}{\Delta t}$$

    pri čemer V pomeni izmerjeni volumen zraka v vrečki, MP mrtvi prostor (tega ocenite glede na višino, preglednica 2), ΔF razlika v deležih vsebnosti kisika in Δt čas med enim in naslednjim vdihom (če ste se držali zgornjega protokola, je ta čas 20 sekund). Za vmesne vrednosti višin, ki v preglednici 2 niso podane, uporabite naslednjo enačbo za izračun mrtvega prostora:

$$MP = višina^{2.363} \cdot 7{,}585 \cdot 10^{-4}$$

    pri čemer telesno višino vnesite v centimetrih.
    b) Porabo kisika izračunajte za vsak posamezen vdih. Rezultat izrazite v ml/min, zaokrožite na ml/min in zapišite v preglednico 1.

Preglednica 1: Vanjo vnašamo rezultate deležov kisika, pljučnih volumnov, frekvenc dihalnih ciklov in minutnih volumnov – ZAPRTI SISTEM.

	Delež O_2 (%)	**Δdeleža O_2 (%)**	**Poraba kisika (ml/min)**
Pred prvim izdihom			
Na koncu 1. izdiha			
Na koncu 2. izdiha			
Na koncu 3. izdiha			
Na koncu 4. izdiha			

Preglednica 2: Ocena anatomskega mrtvega prostora kot funkcija višine merjene osebe. Mrtvi prostor je volumen zraka v dihalni poti od nosu in ust do terminalnih bronhiolusov, v kateri se ne izmenjujeta kisik in ogljikov dioksid.

višina (cm)	**mrtvi prostor (ml)**
140	89
145	97
150	105
155	114
160	123
165	132
170	141
175	151
180	162
185	173
190	184
195	196
200	208

Odprti sistem

Meritev lahko izvedete tudi v t. i. **odprtem sistemu.** Gre ze zelo podobno meritev kot zgoraj, le da ne boste predihavali zraka v vrečki, temveč boste z vsakim vdihom zajeli atmosferski zrak in ga izdihnili v vrečko. To bomo ponovili petkrat in rezultat uporabili za izračun povprečne porabe kisika. Rezultat bi moral biti zelo podoben meritvi v zaprtem sistemu (zgoraj).

1. Ponovite zgornje korake 1. – 9.
2. Izvedite meritev v odprtem sistemu:

a) Začnite merjenje tako, da kliknete »*Collect*«.

b) Izvedite naslednji dihalni manever v nekaj korakih – tokrat naj bodo volumni izdihanega in vdihanega kolikor se da enaki kot med normalnim dihanjem, to je enaki dihalnemu volumnu. Zajemite dihalni volumen atmosferskega zraka (ne uporabljajte tulca) in zadržite dih za 10 sekund. Skozi tulec izdihnite ves zrak v vrečko in zadržite dihanje za 10 sekund (tulca ne odmikajte od ust). Ponovite zadnja koraka (vdih 10 sekund, izdih 10 sekund) še trikrat tako, da vsakokrat vdihnete atmosferski zrak in ga izdihnete v vrečko.

c) Po 80 sekundah se merjenje samodejno ustavi.

3. Izračunajte razliko v deležu kisika v plinski mešanici v vrečki po zadnjem izdihu glede na vrednost v atmosferskem zraku in rezultat zapišite v preglednico 2.

4. Izračunajte pripadajoč delež, za kolikor se je vsebnost kisika zmanjšala glede na atmosferski zrak. Rezultate vnesite v preglednico.

5. Ocenite volumen zraka v vrečki, ki se je nabral s petimi izdihi v vrečko. Uporabite tehniko iz prejšnje naloge.

6. Izračunajte povprečno porabo kisika med petimi dihalnimi cikli.

a) Uporabite izračunane razlike v deležih vsebnosti kisika v vrečki in izmerjen volumen zraka v vrečki v naslednji enačbi:

$$\dot{V}_{O_2} = \frac{(V - n \cdot MP) \cdot \Delta F}{\Delta t}$$

Pri čemer V pomeni volumen zraka v vrečki, n število dihalnih ciklov, MP mrtvi prostor (tega ocenite glede na višino, pregledica 2), ΔF razlika v deležih vsebnosti kisika in Δt čas med prvim vdihom in zadnjim izdihom (če ste se držali zgornjega protokola, je ta čas 80 sekund). Za vmesne vrednosti višin, ki v preglednici 2 niso podane, uporabite naslednjo enačbo za izračun mrtvega prostora:

$$MP = višina^{2.363} \cdot 7{,}585 \cdot 10^{-4}$$

pri čemer višino vnesite v centimetrih.

b) Rezultat izrazite v ml/min, zaokrožite na ml/min in zapišite v preglednico 3.

Preglednica 3: Vanjo vnašamo rezultate deležov kisika, pljučnih volumnov, frekvenc dihalnih ciklov in minutnih volumnov – ODPRTI SISTEM.

	Delež O_2 (%)	**Δdeleža O_2 (%)**	**Poraba kisika (ml/min)**
Pred prvim izdihom			
Na koncu zadnjega izdiha			

Vprašanja za utrjevanje

1. Opišite pot kisika iz zraka okoli nas do tlačnih tkiv, npr. mišic.

2. Kakšen delež kisika ste izmerili v zraku, ki ga vdihujemo? Ali je vrednost podobna predvideni (21 %)? Zakaj se vrednost deleža kisika v izdihanem zraku zmanjšuje?

3. Normalna poraba kisika človeškega telesa je okoli 250 ml na minuto. Obe metodi proizvedeta med seboj podobne vrednosti porabe kisika. Kakšno vrednost porabe

kisika ste izmerili po eni in kakšno vrednost po drugi metodi? Ali sta vrednosti primerljivi? Če nista, kaj menite, da je razlog?

4. Utemeljite, kakšni bi bili rezultati v deležih kisika, če bi poskus opravili na višji nadmorski višini (npr. na Triglavu), kjer je manjši delni tlak kisika (glej prispevek Dihalni odziv na spremembe vsebnosti plinov v krvi, v istem priročniku). Predvidevajte, da se poraba kisika z višino ne bi spreminjala.

5. V literaturi poiščite, kakšen način dihanja imajo ptice. Primerjajte učinkovitost in prilagoditve, ki so povezane z letenjem.

Literatura in viri

1 *Boron, W. F., Boulpaep, E. L. (2009). Medical physiology: a cellular and molecular approach, 2nd ed. Philadelphia: Elsevier Saunders.*

2 *Hall, J. E. (2011). Guyton and Hall Textbook of medical physiology, 12th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier.*

3 *Hart, M. C., Orzalesi, M., Cook, C. D. (1963). Relation between anatomic respiratory dead space and body size and lung volume. Journal of Applied Psysiology 18, 519 (May 1, 1963).*

4 *Ribarič, S. (ur.) (2008). Seminarji iz patološke fiziologije, 1. izd. Ljubljana: Medicinska fakulteta, Inštitut za patološko fiziologijo.*

5 *Ribarič, S. (ur.) (2012). Seminarji iz patološke fiziologije, 2. izd. Ljubljana: Medicinska fakulteta, Inštitut za patološko fiziologijo.*

6 *Stožer, A., Dolenšek, J., Marjan, R. (2012). Fiziologija pljuč, 1. del. Medicinski razgledi, 2012/3-4/02.*

7 *Stožer, A., Dolenšek, J., Marjan, R. (2012). Fiziologija pljuč, 2. del. Medicinski razgledi, 2012/3-4/03.*

8 *Stožer, A., Dolenšek, J., Marjan, R. (2012). Fiziologija pljuč, 3. del. Medicinski razgledi, 2012/3-4/04.*

9 *Stožer, A., Križančić Bombek, L., Dolenšek, J., Skelin, M. (2012). Izbrana poglavja iz fiziologije za študente medicine: z navodili za vaje, 1. izd. Maribor: Medicinska fakulteta.*

10 *Stocks, J., Quanjer, P. H. (1995). Reference values for residual volume, functional residual capacity and total lung capacity. European Respiratory Society, 8, 492 (Mar, 1995).*

11 *West, J. B. (2005). Respiratory physiology: The essentials, 7th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.*

2.3.15 Fiziologija aerobne vadbe: kardiovaskularne in dihalne prilagoditve na vadbo

Dr. Lidija Križančić Bombek, Univerza v Mariboru, Medicinska fakulteta, Inštitut za fiziologijo

Povzetek

Predstavljeni prispevek nazorno prikazuje, kako se med telesno dejavnostjo spreminjata frekvenca srčnega utripa in dihanje (frekvenca in globina). Dijaki delajo v skupinah, kjer ena testna oseba izvaja aerobno telesno dejavnost (vadbo), drugi pa s pomočjo Vernierjevih vmesnikov spremljajo spreminjanje frekvence srčnega utripa ter frekvenco in globino dihanja med vadbo in po njej. Po končanih meritvah analizirajo podatke in izpolnijo priložene delovne liste ter diskutirajo o dobljenih rezultatih. Prispevek podaja tudi razširjeno razlago telesnih sprememb med vadbo, ki je najprej namenjena učiteljem pa tudi dijakom, ki jih posebej zanima področje športne fiziologije.

Čas za izvedbo dejavnosti

dve šolski uri: priprava aparature 15–20 minut, zajemanje podatkov 15 minut, analiza meritev, izpolnjevanje delovnih listov in diskusija eno šolsko uro

Povezava z učnim načrtom

- B – Raziskovanje in poskusi
- C – Zgradba in delovanje celice
- F – Zgradba in delovanje organizmov
  - F4 – Zgradba in delovanje človeka in drugih živali

Izbirni program:

- I – Biološke osnove zdravega življenja

Maturitetni program

- M – Biologija celice
- N – Fiziologija človeka

Dijaki razumejo:

- da se hranilne snovi porabijo za pridobivanje energije za poganjanje življenjskih procesov (celično dihanje) in za zgradnjo lastnih organskih snovi ter da se neporabljene hranilne snovi začasno uskladiščijo (glikogen, maščoba);

- da večina živali energijo pridobiva s celičnim dihanjem, za kar sta potrebna dostava kisika do vsake celice in odstranjevanje ogljikovega dioksida; razumejo razliko med ventilacijo, izmenjavo plinov in celičnim dihanjem;
- zgradbo dihal pri človeku in jo povežejo s funkcijo izmenjave plinov;
- da izmenjava plinov poteka s pomočjo difuzije, kar zahteva kratke razdalje, in to povežejo z zgradbo pljučnih mehurčkov in pljučnih kapilar;
- da človek zaradi difuzijskih omejitev potrebuje transportne sisteme; visoka stopnja porabe kisika pri živalih s stalno telesno temperaturo zahteva učinkovit transport kisika;
- da poleg prenosa dihalnih plinov kri opravlja tudi druge funkcije (prenos hranilnih snovi, produktov presnove, hormonov, toplote ...);
- zgradbo in delovanje srca ter žilnega sistema pri človeku ter ju povežejo s primarno funkcijo prenosa dihalnih plinov;
- da imajo živali za gibanje in lokomocijo beljakovine, ki spreminjajo svojo obliko ob porabi kemijske energije v obliki ATP;
- zgradbo prečno-progaste skeletne mišice in jo povežejo z njenim delovanjem;
- pomen telesne dejavnosti za delovanje organskih sistemov in celotnega organizma;
- povezavo med intenzivnostjo telesne dejavnosti, prostornino porabljenega kisika in deležem oksidacije maščob in ogljikovih hidratov;
- da je laktat, ki se s krvjo prenese v jetra, produkt anaerobnega dihanja in vzrok za nastanek kisikovega dolga, in razumejo nadaljnjo presnovo laktata (Corijev cikel, glukoneogeneza);
- pojem telesna pripravljenost (»fitnes«), merila zanjo in pomen fizičnih sposobnosti pri različnih dejavnostih;
- da je vir energije za sintezo ATP pri celičnem dihanju kemijsko vezana energija v organskih snoveh in da se energija v nastalih molekulah ATP porabi za pogon različnih procesov v celici;
- delovanje skeletnih mišic, vključno z vlogo aktina, miozina, Ca^{2+} in ATP, ki nastaja med celičnim dihanjem in glikolizo;
- da med povečano telesno dejavnostjo mišične celice potrebujejo večji dotok kisika in hranilnih snovi ter hitrejše odstranjevanje CO_2 (povečan srčni utrip in hitrost dihanja);
- da v primeru pomanjkanja kisika v mišičnih celicah poteka anaerobni metabolizem.

Literatura

1 *McArdle, W. D., Katch, F. I., Katch, V.L. (2010). Exercise physiology: nutrition, energy, and human performance. 7th ed. Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore.*

2 *Stožer, A., Križančić Bombek, L., Dolenšek, J., Skelin, M. (2012). Izbrana poglavja iz fiziologije za študente medicine z navodili za vaje. Maribor: Medicinska fakulteta.*

Učni list 1

Kardiovaskularne in dihalne prilagoditve na vadbo

Med telesno dejavnostjo (vadbo) se poveča poraba energije v mišicah, zaradi česar se povečata količina oksidiranih hranil in poraba kisika. Da bi bil mišicam zagotovljen zadosten dotok kisika in hranil, se pospeši krvni pretok in poveča pljučna ventilacija.

Za povečanje krvnega pretoka je odgovorno predvsem zvišanje frekvence utripanja srca, povečata pa se tudi utripni volumen (količina krvi, ki jo srce pošlje v obtok z enim utripom) in moč stiskanja srca. Produkt med frekvenco utripanja in utripnim volumnom imenujemo minutni volumen srca in narašča z naraščajočo telesno dejavnostjo od približno 5 l/min v mirovanju pa vse do 20–30 l/min pri zelo intenzivni vadbi treniranih športnikov. Pri ljudeh, ki se s telesno dejavnostjo ukvarjajo redno, je utripni volumen srca večji, maksimalno frekvenco dosežejo pri večjih obremenitvah telesa, srčni utrip pa se po vadbi vrne na normalnega v krajšem času (čas umirjanja) kot pri ljudeh, ki se z redno vadbo ne ukvarjajo.

Povečana pljučna ventilacija telesu zagotavlja povečano oskrbo s kisikom. Med vadbo se povečata tako globina dihanja kakor tudi frekvenca. Produkt med globino in frekvenco dihanja imenujemo ventilacija. Pove nam, kakšna količina zraka se pretoči v pljuča in iz njih, ne dobimo pa iz nje podatka o količini porabljenega kisika v telesu (VO_2), razen če izmerimo koncentracijo kisika v izdihanem zraku. Količina porabljenega kisika je dober kazalnik intenzivnosti vadbe, maksimalna količina porabljenega kisika pri vsakem posamezniku pa kaže na njegovo telesno pripravljenost in znaša od 200 do 300 ml/min v mirovanju do 3–5 l/min med zelo intenzivno vadbo.

Meritve

1. Spreminjanje frekvence utripanja srca:
   - med vadbo (tek na mestu ali tekočem traku ali kolesarjenje na sobnem kolesu),
   - v času umirjanja neposredno po vadbi.
2. Spreminjanje frekvence in globine dihanja:
   - med vadbo (tek na mestu ali tekočem traku ali kolesarjenje na sobnem kolesu),
   - v času umirjanja neposredno po vadbi.

Če imamo na voljo več kompletov Vernierjevih vmesnikov in senzorjev, oblikujemo skupine po 3–4 dijake. Vajo lahko izvedemo tudi kot demonstracijo z eno testno osebo.

Po želji lahko meritve spreminjanja srčne frekvence in dihanja izvedemo kot dve ločeni vaji.

Za izvedbo meritev potrebujemo:

- računalnik,
- dva Vernierjeva vmesnika LabQuest (LABQ),
- EKG-senzor (EKG-BTA) ali ročni merilec srčnega utripa (HGH-BTA),
- tri elektrodne priključke (če uporabljamo EKG-senzor),
- spirometer (SPR-BTA),
- ustnik za enkratno uporabo,
- bakteriološki filter,

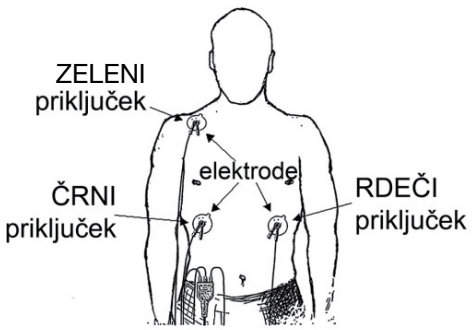
- ščipalka za nos,
- sobno kolo (če je na voljo, sicer lahko tek na mestu).

Navodilo za delo z Vernierjevim vmesnikom in senzorji

1. Če uporabljamo **EKG-senzor**:

   a) Povežemo EKG-senzor z vmesnikom LabQuest. Odpremo datoteko »*12 Analyzing Heart EKG*« v mapi *Human Physiology with Vernier*.

   b) Prilepimo tri elektrodne priključke na prsni koš, kot prikazuje slika 1 (pozitivno elektrodo (rdeči priključek) na levi spodnji rob reber, negativno elektrodo (zeleni priključek) na desno ramo in ozemljitev (črni priključek) na desni spodnji rob reber).



Slika 1: Postavitev elektrodnih priključkov. (Vir: Stožer in sod.)

   c) Povežemo elektrodne priključke z EKG-senzorjem.

   d) Zaženemo program za zajemanje podatkov.

   e) Programska oprema bo samodejno zaznala EKG-senzor.

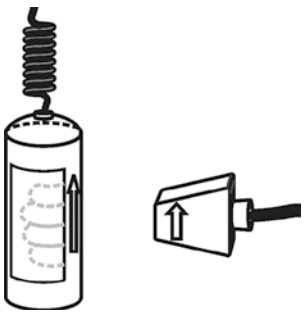
   f) Nastavimo dolžino zajemanja podatkov Vernierjevega vmesnika na 16 minut.

   Če uporabljamo **ročni merilnik srčnega utripa**:

   a) Povežemo sprejemnik merilnika srčnega utripa z vmesnikom LabQuest.

   b) Odpremo datoteko »*04 Heart Rate and Exercise*« v mapi *Human Physiology with Vernier*.

   c) Sprejemnik in del, ki ga držimo v roki, sta označena z belo puščico, kot je prikazano na sliki 2.



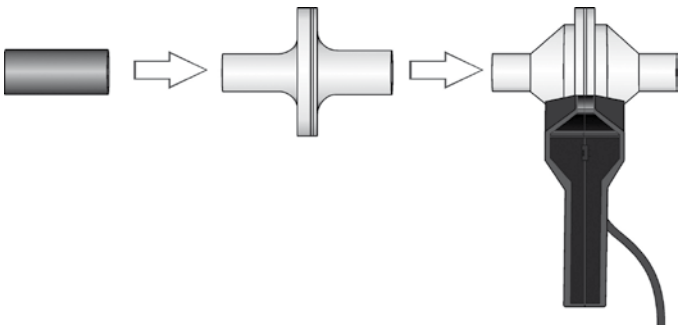
Slika 2: Oznaka – bela puščica na delu merilnika srčnega utripa, ki ga držimo v roki (levo) in na sprejemniku (desno). (Vir: Vernier)

d) Testna oseba naj prime merilnik srčnega utripa v roko, tako da so prsti nameščeni na označenih mestih. Merilnik naj drži navpično.

e) Druga oseba naj drži sprejemnik največ 60 cm stran od merilnika, tako da sta beli puščici obrnjeni v isto smer ter približno na isti višini.

f) Nastavimo dolžino zajemanja podatkov Vernierjevega vmesnika na 16 minut.

2. Povežemo **spirometer** z drugim Vernierjevim vmesnikom. Odpremo datoteko »*20 Respiratory Response*« v mapi *Human Physiology with Vernier*.
3. Širši del bakteriološkega filtra priključimo na spirometer na strani z oznako »inlet«.
4. Na drugo stran bakteriološkega filtra namestimo ustnik (slika 3).



Slika 3: Sestavljanje ustnika, bakteriološkega filtra in spirometra. (Vir: Vernier)

5. Spirometer držimo navpično (tudi med izvajanjem meritev!!!) in pritisnemo gumb za umerjanje (*Ø Zero*), da določimo ničelno vrednost.
6. Čas zajemanja podatkov nastavimo na 16 minut.
7. Na nos namestimo ščipalko. Testna oseba naj začne dihati skozi spirometer.
8. Na obeh Vernierjevih vmesnikih hkrati pritisnemo gumb »*Collect*« za zajemanje podatkov.
9. Testirana oseba naj miruje približno 30 sekund, nato pa začne lahno vadbo (kolesarjenje ali tek na mestu).
10. Intenzivnost vadbe postopno povečujemo (približno vsaki dve minuti), tako da v desetih minutah dosežemo frekvenco srčnega utripa okoli 160 utripov/min.
11. Po desetih minutah prenehamo vadbo, vendar nadaljujemo snemanje še pet minut.

Gradivo za učitelje

Kardiovaskularne in dihalne prilagoditve na vadbo

1 Energija za mišično delo

Mišice za krčenje potrebujejo ATP, ki v celicah sproti nastaja s fosforilacijo ADP. Imamo tri osnovne metabolične sisteme, v katerih nastaja ATP: (a) razgradnjo fosfokreatina (kreatin fosfat) v kreatin. Ta vir zadostuje za nekaj sekund intenzivnega mišičnega dela; (b) glikolizo, kjer se glukoza anaerobno razgradi do piruvata, ta pa se nato pretvori v laktat; (c) popolno oksidacijo (aerobni metabolizem) glukoze in maščobnih kislin.

Za dolgotrajno mišično delo so poleg zalog mišičnega glikogena pomembne tudi zaloge jetrnega glikogena, ki se razgrajuje v glukozne podenote, te pa se s krvjo prenesejo na mesto porabe. Prav tako so pomembne maščobne kisline, ki oksidirajo v procesu b-oksidacije. Le v skrajnih razmerah se za tvorbo energije porabljajo beljakovine.

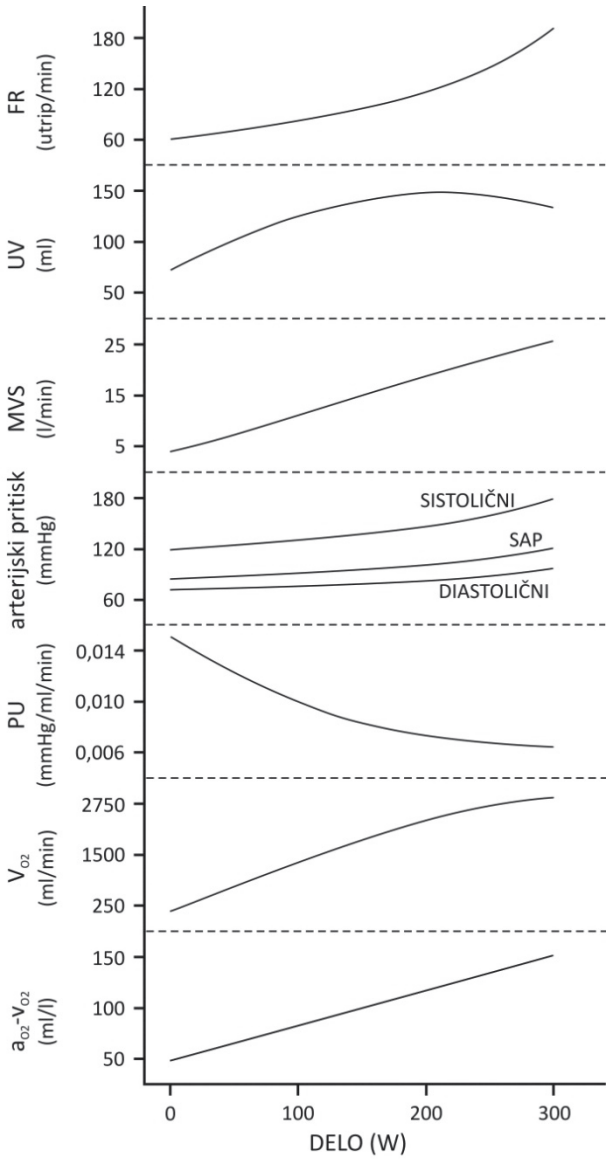
Začetek vadbe je povezan z nenadnim povečanjem porabe energije, čemur aerobno nastajanje ATP ne sledi dovolj hitro. Za premostitev tega obdobja (približno dve minuti; odvisno od intenzivnosti, s katero začnemo vaditi) imajo mišične celice majhno zalogo ATP, fosfokreatina, glikogena in kisika. Pozneje je intenzivnost vadbe omejena s hitrostjo oskrbe celic s kisikom in hranili. Pri zmerni – aerobni vadbi sta oskrba s kisikom in odstranjevanje odpadnih produktov zadostna, pri intenzivni vadbi pa se energija porablja hitreje kot nastaja, zato pride do pospešitve anaerobnih procesov glikolize (t. i. *anaerobni prag*).

Po koncu vadbe je še nekaj časa povečano privzemanje glukoze in kisika v mišicah (kar opazimo kot pospešeno frekvenco utripanja srca ter povečano frekvenco in globino dihanja). Ta čas imenujemo »čas odplačevanja *kisikovega dolga*« in zagotavlja obnovo energetskih zalog ter odstranjevanje laktata.

2 Odziv kardiovaskularnega sistema na aerobno vadbo

Povečan pretok krvi skozi delujoče mišice na začetku vadbe je posledica lokalnega nastanka metabolitov anaerobne presnove (znižan parcialni pritisk kisika, znižan pH, zvišan parcialni pritisk ogljikovega dioksida in zvišana zunajcelična koncentracija K^+), ki povzročijo vazodilatacijo arteriol in sproščanje predkapilarnih sfinktrov ter posledično zmanjšanje lokalnega perifernega upora. Kadar pri vadbi sodelujejo številne in velike mišice je zmanjšanje skupne periferne upornosti veliko. Da v teh okoliščinah ne pride do čezmernega znižanja arterijskega tlaka, se z baroreceptorskim refleksom pospeši delovanje srca (zviša se frekvenca, poveča se utripni volumen). Da je za dejavne mišice na razpolago več krvi, se poveča periferni upor v prebavilih, ledvicah in prehodno tudi koži (pozneje se zaradi ohlajanja telesa žile v podkožju znova razširijo). Zaradi skrčenja venskih sten (venokonstrikcija) se poveča dotok krvi v srce. Ti mehanizmi vodijo v povečan minutni volumen srca (MVS; produkt med frekvenco in utripnim volumnom), ki je med zelo intenzivno vadbo pri treniranih atletih lahko tudi od 5- do 6-krat večji kot v mirovanju.

Med vadbo povečani MVS in vazokonstrikcija v notranjih organih vodita v rahlo zvišanje srednjega arterijskega tlaka kljub zmanjšanemu perifernemu uporu v mišicah. Slika 1 prikazuje nekatere parametre, ki se spreminjajo med telesnim naporom.

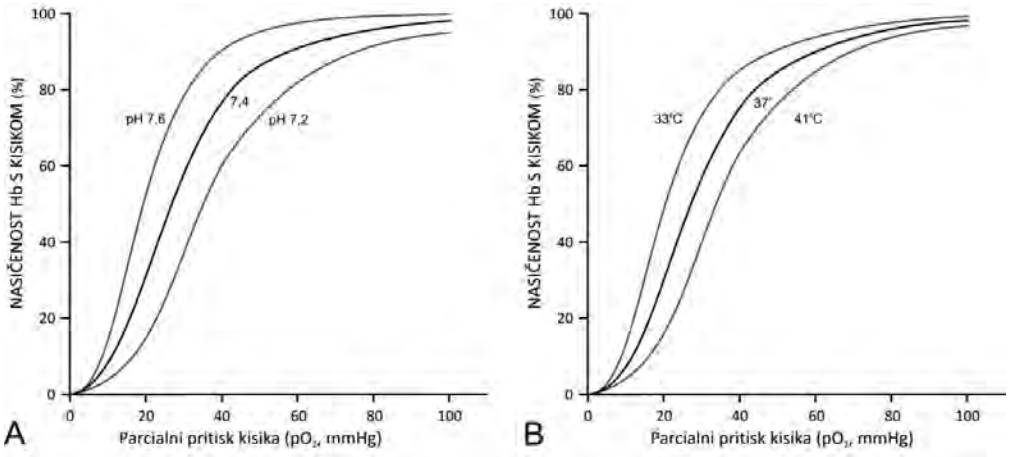


Slika 1: Frekvenca srčnega utripa (*FR*), utripni volumen (*UV*), minutni volumen srca (*MVS*), arterijski pritisk, skupni periferni upor (*PU*), poraba kisika (VO_2) in arterijsko-venska razlika v vsebnosti kisika ($a_{O_2} - v_{O_2}$) pri telesnem naporu različnih intenzivnosti.

Maksimalna frekvenca srčnega utripa (FR_{MAX}) vsakega posameznika je odvisna predvsem od njegove starosti in se s staranjem znižuje. Natančno jo lahko določimo, če izvedemo obremenitveni test, kjer postopno povečujemo intenzivnost vadbe do maksimalne obremenitve, ki jo posameznik zmore. Približno oceno FR_{MAX} lahko izračunamo iz empirično določenih formul, vendar pri nekaterih posameznikih močno odstopa od povprečja. Pri najpreprostejši formuli od 220 odštejemo starost in dobimo FR_{MAX}.

Bolj kot FR_{MAX} se med posamezniki razlikuje srčna frekvenca, pri kateri nastopi anaerobni prag. Običajno je to pri srčnem utripu okoli 80 odstotkov FR_{MAX}, toda ta meja se lahko s pravilnim treningom pomakne tudi bližje FR_{MAX}. Ta premik je pomemben predvsem za aerobne športe, ker zakasni pojav utrujenosti zaradi kopičenja anaerobnih metabolitov oziroma omogoči športniku daljše ali intenzivnejše športno udejstvovanje.

Mišice za aerobno delo potrebujejo povečano oskrbo s kisikom. Normalno je hemoglobin (Hb) v arterijski krvi skoraj popolnoma nasičen z njim (> 95 odstotkov). V mišicah se del kisika sprosti s Hb in se veže na mioglobin (Mb) v celicah. Po potrebi difundira kisik v mitohondrije, kjer se porabi za oksidacijo hranil. Disociacija kisika s hemoglobina je močno odvisna od pH in temperature. V dejavnih mišicah je lokalno znižan pH in zvišana temperatura, kar pri istem parcialnem tlaku kisika (pO_2)[11] poveča njegovo disociacijo s hemoglobina (slika 2). Posledično je pO_2 venske krvi, ki zapušča mišice, manjši.



Slika 2: Disociacija kisika s hemoglobina (Hb) je odvisna od lokalnega pH in temperature. A: V dejavnih mišicah je pH znižan zaradi zvišane koncentracije protonov, ki so produkt anaerobnih metabolnih procesov (disociacija laktata). B: Zaradi povečanega metabolizma v dejavnih mišicah se sprošča več toplote, ki zviša temperaturo mišic, kar olajša sproščanje O_2 s Hb.

3 Odziv dihalnega sistema na aerobno vadbo

Dihalni cikel sestavljata vdih in izdih. Nadzorujejo ju kompleksni regulatorni mehanizmi, ki vključujejo nevrone v možganskem korteksu, možganskem deblu in perifernem živčnem sistemu ter centralne in periferne receptorje. Receptorji so občutljivi na različne kemične in tlačne dražljaje. Osrednji nadzor dihanja poteka v mostu (pons) in podaljšani hrbtenjači (medulla oblongata) na podlagi kemičnih vplivov. Drugi vhodni podatki izvirajo iz receptorjev za nateg v pljučih in kemoreceptorjev v karotidnih in aortnih telescih. Kemoreceptorji se najhitreje in najmočneje odzivajo na spremembe v parcialnem tlaku ogljikovega dioksida (pCO_2), občutljivi pa so tudi na spremembe pO_2 in pH.

Nenehno prilagajanje dihalnega cikla čez dan zagotavlja izmenjavo plinov v pljučih in ohranjanje čim bolj nespremenjene količine CO_2 v krvi. Zvišanje pCO_2 stimulira dihanje. Prav tako na dihalni cikel vpliva pO_2, a je za odziv potrebna večja sprememba kot pri CO_2.

V mirovanju povprečen odrasel moški tvori približno 200 ml CO_2 na minuto. Ta vrednost lahko med intenzivno vadbo naraste na več kot 2 litra. Pospešeno ali globlje dihanje (hiperventilacija) zniža pCO_2 v krvi.

[11] *p_{O_2} je v tkivih v normalnih razmerah okoli 40 mmHg, med intenzivno vadbo pa se zniža na 25-35 mmHg, kar je posledica večje porabe kisika v mišici.*

Na začetku vadbe se skoraj takoj poveča ventilacija, kar je posledica stimulacije dihalnih centrov za vdih v centralnem živčevju. Ob stopnjevanju intenzivnosti vadbe se zaradi kemičnih dejavnikov v arterijski krvi (pO_2, pCO_2, pH ...) frekvenca in globina dihanja postopno zvišujeta. Pri nizki intenzivnosti vadbe je ventilacija povečana predvsem na račun povečane globine dihanja, pri bolj intenzivni vadbi pa se zviša tudi frekvenca dihanja. Frekvenca dihanja v mirovanju je okoli 12–15 vdihov/min, med intenzivno vadbo pa naraste na 40–60 vdihov/min. Globina dihanja pa iz mirovne, ki znaša 0,3–1 l/vdih, lahko naraste na 2–4 l/vdih. Če zmnožimo globino in frekvenco dihanja, dobimo ventilacijo v mirovanju, ki znaša okoli 4–15 l/min, maksimalna pa lahko preseže 200 l/min. Med maksimalno vadbo ventilacija običajno doseže le okoli 60 odstotkov maksimalne vrednosti, medtem ko je kardiovaskularni sistem 100-odstotno obremenjen in torej predstavlja omejujoči dejavnik intenzivnosti napora.

Delovni list 1

Aerobna vadba

Navodilo za odčitavanje vrednosti iz zbranih podatkov

* Kliknite in potegnite kurzor prek začetnega dela zajetih podatkov (30 sekund mirovanja). Tako označite interval, ki vas zanima. Pritisnite gumb za statistiko »Statistics« in izberite povprečje (*mean*). Odčitajte povprečni srčni utrip na danem intervalu.

** V začetnem delu podatkov izberite reprezentativen »vrh in dolino« (vdih in izdih) dihalnega cikla ter kliknite in potegnite kurzor čeznju, da označite en dihalni cikel. Lahko označite tudi od enega do naslednjega vrha ali od ene do naslednje doline. V spodnjem levem kotu se prikaže vrednost Δx, ki jo uporabite, da izračunate število dihalnih ciklov v minuti – frekvenco dihanja.

*** V začetnem delu podatkov izberite reprezentativen »vrh in dolino« (vdih in izdih) dihalnega cikla ter kliknite in potegnite kurzor od vrha do doline, da označite dihalni volumen. V spodnjem levem kotu se prikaže vrednost Δy, ki predstavlja globino dihanja.

\+ Produkt med frekvenco in globino dihanja.

++ Kliknite in potegnite kurzor prek kratkega dela zajetih podatkov v okolici vsakega od časov, navedenih v tabeli. Tako označite interval, ki vas zanima. Odčitajte povprečno frekvenco utripanja srca ter frekvenco in globino dihanja.

Podatki o testirani osebi:

Ime _____ Starost _____ Višina _____ Masa _____ Spol: M / Ž

A. **Pred vadbo** – vnesite vrednosti izmerjene v 30-sekundnem intervalu pred začetkom vadbe.

Srčni utrip* Frekvenca [utripov/min]	**Dihanje**** Frekvenca [vdihov/min]	**Dihanje***** Globina [l]	**Ventilacija**+ [l/min]

B. **Med vadbo** – vnesite vrednosti izmerjene med vadbo. Pazite na časovno skalo – 0 predstavlja začetek vadbe!

Čas++ (s)	**Srčni utrip*** Frekvenca [utripov/min]	**Dihanje**** Frekvenca [vdihov/min]	**Dihanje***** Globina [l]
0			
30			
60			
90			
120			
150			
180			
210			
240			
270			
300			
330			
360			
390			
420			
450			
480			
510			
540			
570			
600			

C. **Po vadbi** - vnesite vrednosti izmerjene v 5-minutnem intervalu po končani vadbi. Pazite na časovno skalo – 0 predstavlja konec vadbe!

Čas++ (s)	**Srčni utrip*** Frekvenca [utripov/min]	**Dihanje**** Frekvenca [vdihov/min]	**Dihanje***** Globina [l]
0			
30			
60			
90			
120			
150			
180			
210			
240			
270			
300			

D. **Ventilacija.** Izračunajte ventilacijo (l/min) testirane osebe pred vadbo, med vadbo (po 1, 2, 5 minutah po začetku vadbe in pri maksimalni vadbi) ter 1, 2 in 5 minut po vadbi. Ventilacija je produkt med frekvenco in globino dihanja v vsakem trenutku.

	Čas [min]	**Ventilacija** [l/min]
Pred vadbo	-	
Med vadbo	1 (lahna vadba)	
	2	
	5	
	10 (intenz. vadba)	
Po vadbi	1	
	2	
	5	

Vprašanja

1. Normalna frekvenca srca v mirovanju je 55–100 utripov/min. Kakšna je bila frekvenca vaše testirane osebe? Če ni bila v mejah normale, diskutirajte o možnih vzrokih.
2. Za koliko utripov/min se je frekvenca srca zvišala med intenzivno vadbo? Kakšen odstotek je to v primerjavi s frekvenco v mirovanju?
3. Primerjajte odstotke povišanja srčne frekvence med intenzivno vadbo pri različnih testiranih osebah.
4. Opišite spremembe frekvence in globine dihanja med različno intenzivnimi vadbami v primerjavi z mirovanjem.
5. Primerjajte frekvenco in globino dihanja med različnimi testnimi osebami. Kakšne so razlike med moškimi in ženskami?
6. Zakaj je pomembno povišanje ventilacije med vadbo?
7. Kako dolgo je trajalo, preden se je testirana oseba fiziološko umirila? So se meritve v petih minutah vrnile nazaj na normalne vrednosti pred vadbo?
8. Se testirane osebe med seboj razlikujejo v času, ki ga potrebujejo za umirjanje? Zakaj?

2.3.16 Arterijski tlak

Dr. Lidija Križančić Bombek, Univerza v Mariboru,
Medicinska fakulteta, Inštitut za fiziologijo

Povzetek

Naslednja praktična vaja obravnava merjenje in uravnavanje arterijskega krvnega tlaka pri človeku. Dijaki pri eksperimentalnem delu merijo in opazujejo razlike v sistoličnem in diastoličnem arterijskem tlaku, izmerjenem na levi in desni roki ter v različnih legah telesa (leže, sede, stoje) s pomočjo napihljive manšete in Vernierjevega vmesnika. Ugotavljajo tudi, kako telesna dejavnost vpliva na arterijski tlak in izračunajo srednji arterijski tlak (SAP) pri različnih eksperimentalnih pogojih in legah telesa. Dobljene rezultate vpisujejo v delovne liste, ki so na koncu vaje. V diskusiji z učiteljevo pomočjo razpravljajo o uravnavanju arterijskega tlaka na primeru baroreceptorjev.

Čas za izvedbo dejavnosti

Ena do dve šolski uri: meritve 15–20 minut, analiza meritev, izpolnjevanje delovnih listov in diskusija

Povezava z učnim načrtom

- B – Raziskovanje in poskusi
- F – Zgradba in delovanje organizmov
  - F4 – Zgradba in delovanje človeka in drugih živali

Izbirni program

- I – Biološke osnove zdravega življenja

Maturitetni program

- N – Fiziologija človeka

Dijaki razumejo:

- princip negativne povratne zanke kot preprostega mehanizma za vzdrževanje dinamičnega ravnovesja;
- medsebojno povezanost med zgradbo in delovanjem organov za privzem, predelavo, transport in izločanje snovi glede na specifično okolje organizmov;
- da poleg prenosa dihalnih plinov kri opravlja tudi druge funkcije (prenos hranilnih snovi, produktov presnove, hormonov, toplote ...);

- zgradbo in delovanje srca ter žilnega sistema pri človeku ter ju povežejo s primarno funkcijo prenosa dihalnih plinov;
- da živali predvsem zaradi svojega navadno gibljivega načina življenja potrebujejo sisteme, ki nadzirajo in koordinirajo delovanje različnih organskih sistemov v krajših časovnih obdobjih, kot je to pri rastlinah in glivah; za hitre reakcije je hormonski sistem prepočasen, zato dejavnejše živali potrebujejo tudi živčni sistem, ki se lahko odziva mnogo hitreje;
- pomen telesne dejavnosti za delovanje organskih sistemov in celotnega organizma;
- povezavo med intenzivnostjo telesne dejavnosti, prostornino porabljenega kisika in deležem oksidacije maščob in ogljikovih hidratov;
- pojem telesna pripravljenost (»fitnes«), merila zanjo in pomen fizičnih sposobnostih pri različnih dejavnostih;
- da med povečano telesno dejavnostjo mišične celice potrebujejo večji dotok kisika in hranilnih snovi ter hitrejše odstranjevanje CO_2 (povečan srčni utrip in hitrost dihanja);
- da imajo tehnični in naravni regulacijski sistemi receptorje oziroma senzorje za zaznavanje stanj in njihovih sprememb, procesne centre, ki sprejemajo informacije in koordinirajo odzive ter efektorje, ki samodejno izvedejo odziv;
- da negativna povratna zanka med efektorjem in receptorjem v regulacijskem sistemu omogoča, da se sistem ob odmikih od ravnovesnega stanja vrne nazaj v ravnovesno stanje.

Medpredmetne povezave/predznanja drugih predmetov

- predznanje iz *fizike*: sila, tlak, linearna in prostorninska razteznost

Literatura

1 *Berne, R. M., Levy, M. N., Koeppen, B. M., Stanton, B. A. (2004). Physiology. 5th ed. St. Louis: Mosby, An affiliate of Elsevier Science.*

2 *Stožer, A., Križančić Bombek, L., Dolenšek, J., Skelin, M. (2012). Izbrana poglavja iz fiziologije za študente medicine z navodili za vaje. Maribor: Univerza v Mariboru, Medicinska fakulteta.*

Učni list 1

Arterijski tlak

Pretok krvi po krvožilju omogoča tlak, ki ga ustvarja srce s svojim periodičnim krčenjem. Kri organom in mišicam zagotavlja zadostno oskrbo s kisikom in hranili ter odnaša ogljikov dioksid in metabolne produkte. Srce potiska kri naprej po žilah le med krčenjem (sistolo). Za tok krvi po krvožilju med sproščanjem srca (diastolo) pa so odgovorne aorta in velike arterije, ki so se med sistolo raztegnile, med diastolo pa se krčijo nazaj v svojo prvotno lego ter tako potiskajo kri naprej proti kapilaram. Krčenje žil je posledica elastičnih lastnosti žilnih sten.

Pomembno merilo ustrezne prekrvljenosti tkiv je srednji arterijski pritisk (SAP), ki ni preprosto povprečje med sistoličnim (»zgornji«) in diastoličnim (»spodnji«) pritiskom, saj traja diastola približno dve tretjini srčnega cikla, sistola pa eno tretjino. SAP lahko dokaj dobro izračunamo po enačbi:

$$\mathrm{SAP} = \frac{\mathrm{P_{sis}} + 2 \cdot \mathrm{P_{dia}}}{3}$$

kjer je P_{sis} sistolični pritisk, P_{dia} pa diastolični pritisk.

SAP je linearno odvisen od minutnega volumna srca (MVS; količina krvi, ki jo srce prečrpa v eni minuti) in obratno sorazmeren s skupno periferno upornostjo krvožilja. MVS izračunamo kot produkt med utripnim volumnom (količina krvi pri enem utripu) in frekvenco utripanja srca. Skupna periferna upornost je odvisna od viskoznosti krvi, dolžine arterijskega sistema, premera in elastičnosti arterij, pa tudi od razlike v tlaku na začetku in koncu arterijskega sistema.

Za učinkovito ohranjanje čim bolj konstantnega arterijskega tlaka skrbi veliko nadzornih mehanizmov. Ob spremembi arterijskega tlaka se v nekaj sekundah po principu negativne povratne zveze odzovejo živčni refleksni mehanizmi, med njimi baroreceptorski refleks. Baroreceptorji zaznajo spremembo arterijskega tlaka ter prek simpatičnega in parasimpatičnega živčevja uravnajo tako frekvenco in moč utripanja srca kot tudi krčenje žilnih sten, da se tlak vrne na normalnega. Zelo velik pomen imajo baroreceptorji pri spremembah telesnega položaja (na primer vstajanje iz sedečega ali ležečega položaja), saj se odzovejo zelo hitro in preprečijo nevarne dvige in padce arterijskega tlaka, ki bi imeli negativne posledice za možgane.

Meritve

Sistemski arterijski tlak:

- na desni in levi roki v mirovanju,
- pri različnih legah telesa: sede, leže, stoje,
- neposredno po vadbi.

Če imamo na voljo več kompletov Vernierjevih vmesnikov in senzorjev, oblikujemo skupine po 3–4 dijake. Vajo lahko izvedemo tudi kot demonstracijo z eno testno osebo.

Za izvedbo meritev potrebujemo:

- računalnik
- Vernierjev vmesnik LabQuest (LABQ)
- senzor za krvni pritisk (BPS-BTA)
- manšeto za merjenje arterijskega tlaka (v kompletu s senzorjem za krvni tlak)
- podlago za ležanje

POZOR: Vsaj eno uro pred izvedbo vaje testirana oseba ne sme zaužiti kofeina, kaditi ali izvajati zahtevnejše vadbe.

Navodilo za delo z Vernierjevim vmesnikom in senzorji

1. Priključimo senzor za krvni tlak v kanal 1 Vernierjevega vmesnika. Odpremo datoteko »*08 Blood Pressure Exercise*« v mapi *Human Physiology with Vernier*.
2. Povežemo senzor za krvni tlak z manšeto, če še nista povezana (sledite navodilom, ki so priložena kompletu za merjenje tlaka).
3. Manšeto ovijemo okoli leve nadlahti približno 2 cm nad komolcem. Obe gumijasti cevki manšete morata biti nad brahialno arterijo kot prikazuje slika 1.

Slika 1: Pravilna namestitev manšete za merjenje arterijskega tlaka. (Vir: Vernier)

4. Testirana oseba naj sproščeno sedi, roko naj ima podprto v višini srca (!!!). Med meritvijo se ne sme premikati ali govoriti.
5. Pritisnite gumb za zajemanje podatkov »*Collect*«. Takoj začnite napihovati manšeto, dokler ne dosežete tlaka 160 mm Hg.
6. Takoj položite dva ali tri prste nad radialno arterijo (pri palcu) na zapestju roke brez manšete in otipajte pulz. Preštejte število utripov v 20-sekundnem intervalu in pomnožite s 3, da dobite frekvenco utripanja srca na minuto.
7. Med tem časom bo računalnik izmeril sistolični, diastolični in srednji arterijski tlak. Program bo prenehal meriti tlak, ko se bo ta znižal pod 50 mm Hg oziroma ko se bo

stabiliziral. Takrat lahko zajemanje podatkov ustavite s tlakom na gumb »*Stop*«. Iz manšete spustite preostali zrak.

8. Shranite podatke tako, da izberete ukaz »*Store Latest Run*« v meniju »*Experiment*«.
9. Manšeto prenesemo na desno roko in ponovimo korake 3–8. Podatke shranimo.
10. Testna oseba naj z manšeto na desni roki vstane. Ponovimo korake 3–8. Podatke shranimo.
11. Testna oseba naj z manšeto na desni roki leže. Ponovimo korake 3–8. Podatke shranimo.
12. Testna oseba naj z manšeto na desni roki naredi 50 počepov ali 20–30 sklec. Neposredno po vadbi ponovimo korake 3–8. Podatke shranimo.

Gradivo za učitelje

Arterijski tlak

1 Krvni obtok

Krvni obtok oskrbuje tkiva s kisikom in hranilnimi snovmi ter odnaša odpadne celične produkte, prenaša hormone in vzdržuje relativno stabilno homeostazo. Levi in desni srčni ventrikel kot črpalki poganjata kri po krvožilju med sistolo. Med diastolo pa jo poganjajo aorta in arterije zaradi svoje elastičnosti. Pretok krvi skozi srce je enosmeren zaradi štirih srčnih zaklopk (mitralna, trikuspidalna in semilunarni). Normalno se srce skrči in sprosti od 60- do 100-krat na minuto.

Pretok krvi [l/min] je usmerjen od arterijskega k venskemu delu krvožilja zaradi razlike med srednjim arterijskim tlakom (*SAP* okoli 100 mmHg) in centralnim venskim tlakom (*CVP*; 2–4 mmHg). Na posameznem odseku krvožilja je pretok odvisen od tlačne razlike (ΔP; [mmHg]) med končno in začetno točko odseka (P_2–P_1) ter žilnega upora (R; [mmHg/l/min]), ki nastane zaradi trenja med plazmo in endotelijem ter zaradi številnih različnih krvnih celic, ki se drgnejo ob endotelij in med seboj. Žilni upor je obratno sorazmeren s četrto potenco polmera žilnega odseka (r) in premo sorazmeren z njegovo dolžino (l) ter viskoznostjo krvi (η) kot prikazuje enačba za pretok (ϕ):

$$\Phi = \frac{\Delta P}{R} = \frac{(P_2 - P_1)\pi r^4}{8\eta l}$$

Kri po telesu poganja srce, zato za pretok v krvožilju običajno uporabljamo minutni volumen srca (*MVS*), za tlačno razliko srednji arterijski tlak (*SAP*) in za upor skupni periferni upor žil (*PU*). Soodvisnost omenjenih parametrov zapišemo kot: $SAP = MVS \cdot PU$.

V krvožilju so različne vrste žil med seboj povezane zaporedno (serijsko), istovrstne pa vzporedno (paralelno). Podobno kot v električnih vezjih je skupni upor zaporedno vezanih uporov enak vsoti posameznih uporov: $R = R_1 + R_2 + \cdots + R_n$, pri vzporedno vezanih uporih pa je obratna vrednost skupnega upora enaka vsoti obratnih vrednosti posameznih uporov: $\frac{1}{R} = \frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2} + \frac{1}{R_3} + \cdots + \frac{1}{R_n}$. Čeprav se od aorte proti kapilaram premer posameznih žil zmanjšuje (aorta: 20 –25 mm; kapilare: 5 –10 µm), se povečuje število vzporedno vezanih žil in s tem njihov skupni presek (aorta: 2,5 cm^2; kapilare: 2500 cm^2). Posledično se skupni upor zmanjšuje in hitrost toka krvi upočasnjuje.

2 Podajnost in elastičnost žil

Pomembna lastnost žil je podajnost ali komplianca (C), ki je obratno sorazmerna z elastičnostjo. Definirana je kot količnik med spremembo volumna žile (ΔV) in tlakom (ΔP):

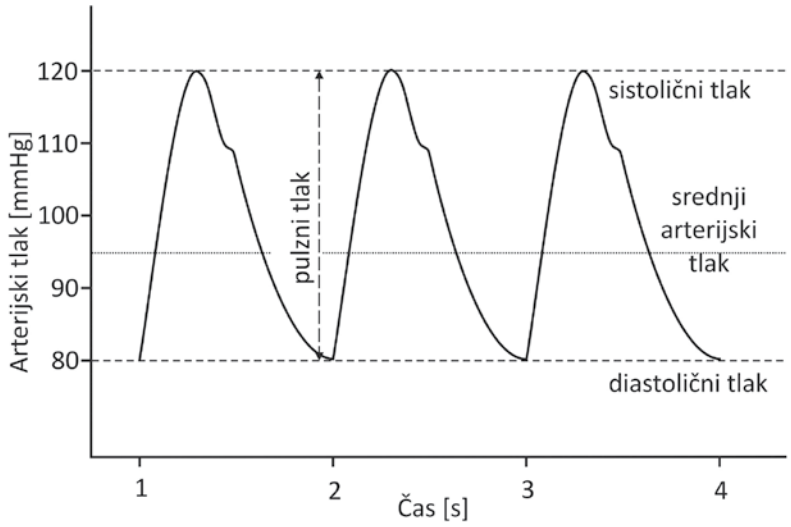
$$C = \frac{\Delta V}{\Delta P}$$

Arterije so približno 20-krat manj podajne od ven, kar pomeni, da neka sprememba tlaka povzroči v arterijah 20-krat manjšo spremembo volumna, kot bi ga v venah. S staranjem se zmanjšuje količina kolagena in povečuje količina elastina v stenah arterij zato postajajo manj podajne, torej bolj elastične. Elastičnost si najlažje preds-

tavljamo kot težnjo neke snovi, da zavzame svojo prvotno obliko. Torej bolj kot je snov elastična, hitreje se vrne v svojo prvotno obliko in težje jo je raztegniti.

3 Arterijski tlak

Ob spreminjanju pretoka krvi med sistolo in diastolo se ciklično spreminja tudi tlak v arterijskem delu krvožilja, kot kaže slika 2. Sistolični tlak (P_{sis}) je najvišji, diastolični tlak (P_{dia}) pa najnižji arterijski tlak med sistolo ventriklov. Na arterijski tlak vplivajo različni dejavniki, kot so volumen krvi v arterijah, komplianca arterij, minutni volumen srca in periferni upor. Razlika med sistoličnim in diastoličnim arterijskim tlakom je pulzni tlak (*PP*).



Slika 2: Spreminjanje arterijskega tlaka med srčnim ciklom.

Srednji arterijski tlak (*SAP*) pravilno izračunamo kot ploščino lika pod krivuljo, ki prikazuje spreminjanja arterijskega tlaka v času enega srčnega cikla (Slika 2) po formuli $SAP = (\int_{t_1}^{t_2} P_a\, dt)/(t_2 - t_1)$, kjer je P_a arterijski tlak v vsaki točki med srčnim ciklom, t_2 in t_1 pa konec in začetek srčnega cikla. V mirovanju in v normalnih razmerah traja diastola približno dve tretjini, sistola pa eno tretjino srčnega cikla, zato lahko *SAP* poenostavljeno izračunamo kot $SAP = (P_{sis} + 2 \times P_{dia})/3$.

4 Vpliv vadbe na spremembe arterijskega tlaka

Aerobna mišična dejavnost lahko poveča krvni pretok v dejavnih mišicah tudi za od 20- do 30-krat. Ker se MVS lahko poveča le od 4- do 7-krat, ni mogoče zadostno povečanje pretoka v celem telesu, da bi omogočil ustrezno lokalno preskrbo dejavnih mišic. Dodatno povečanje lokalnega pretoka se zato zagotovi z vazodilatacijo arteriol v dejavnih mišicah.

Za aerobno vadbo je značilno povečano delovanje simpatičnega živčnega sistema, ki v prvih minutah zmanjša mrtvi volumen ven (posledica je povečan venski priliv) in povzroči konstrikcijo arteriol v perifernih tkivih (razen v dejavnih mišicah). Oboje poleg povečanega pretoka krvi in MVS zviša predvsem sistolični arterijski tlak. Na sistolični krvni tlak močno vpliva črpalna sposobnost srca. Med vadbo sta povečana frekvenca in utripni volumen srca, kar med sistolo ustvarja velik pritisk na stene

arterij. Na diastolični tlak vpliva le povečan pretok krvi, ki pa diastoličnega tlaka ne spremeni bistveno, saj pride zaradi metabolnih produktov v arterijah dejavnih mišic do vazodilatacije.

Nadaljevanje vadbe privede do dodatnega zmanjšanja perifernega upora kot posledica vazodilatacije v dejavnih mišicah in koži (zaradi potrebe po ohlajanju), kar vodi v počasno znižanje sistoličnega tlaka proti mirovni vrednosti. Če je vadba dolgotrajna ali intenzivna, se sistolični tlak počasi zvišuje glede na intenzivnost vadbe. Diastolični tlak se pri lahki ali zmerni aerobni dejavnosti ne spreminja bistveno, pri dolgotrajni in zelo intenzivni vadbi pa začne naraščati.

Vadba, ki zajema izometrična mišična krčenja ali izotonična krčenja z zelo velikimi obremenitvami (npr. dvigovanje uteži), povzroči drugačen srčnožilni odziv kot aerobna vadba. Pri takšni vadbi mišice stiskajo periferne arterije, kar močno poveča lokalno žilno upornost. Dodatno se skupni periferni upor poveča zaradi vazokonstrikcije v notranjih organih. Hkrati pride do povečanja MVS, saj je treba zagotoviti zadostno količino kisika in hranil za vadeče mišice. Vsi ti dejavniki vodijo v znatno zvišanje sistoličnega in diastoličnega arterijskega tlaka (tudi do 480/350 mmHg).

5 Uravnavanje arterijskega tlaka

Normalno delovanje telesa zahteva čim bolj nespremenljiv *SAP*, za kar skrbi veliko regulatornih mehanizmov. Ker je *SAP* sorazmeren s produktom med MVS in perifernim uporom, se bo telo na zmanjšanje enega odzvalo s povečanjem drugega. Po principu negativne povratne zveze arterijski tlak uravnavajo refleksni živčni mehanizmi (baroreceptorski in kemoreceptorski refleks, refleksni odgovor na ishemijo možgan), ki delujejo na zelo kratek rok (sekunde, minute).

Na padec arterijskega tlaka se prvi odzovejo baroreceptorji. Gre za proste živčne končiče v steni karotidne arterije in aortnega loka, ki zaznavajo razteg žilne stene. Informacijo o zmanjšanem raztegu žilnih sten vodijo v podaljšano hrbtenjačo, od tam pa po inhibitornem internevronu do vazomotoričnega področja, ki prek simpatika povzroči vazokonstrikcijo. Sočasno gre informacija tudi v kardioinhibitorno področje, kar zviša frekvenco srčnega utripa.

Velik pomen imajo baroreceptorji pri spremembah telesne lege. Na primer, pri vstajanju iz ležečega položaja pritisk v zgornjem delu telesa pade in pride do trenutne zmanjšane prekrvljenosti možganov, kar bi lahko vodilo v izgubo zavesti (ortostatska hipotenzija), če baroreceptorskemu refleksu ne bi uspelo dovolj hitro dvigniti arterijskega tlaka.

Srednjeročni mehanizmi postanejo dejavni v 30 minutah do nekaj urah (vazokonstrikcija, renin-angiotenzin, stresna relaksacija žilja, premik tekočin v intersticij), dolgoročni mehanizem uravnavanja arterijskega tlaka pa deluje prek izločanja hormona aldosterona in je povezan z uravnavanjem volumna telesnih tekočin z vnosom in izločanjem soli in tekočin v ledvicah.

6 Merjenje arterijskega pritiska z avskultatorno metodo

Za posredno merjenje arterijskega tlaka se najpogosteje uporablja avskultatorna metoda, pri kateri z manšeto najprej zatesnimo arterijo, nato pa pritisk v manšeti znižujemo in s stetoskopom poslušamo zvoke –Korotkovove tone. Prvi Korotkovov ton je oster in »trkajoč«. Slišimo ga, ko se po zadostnem znižanju tlaka v manšeti skozi prej kolabirano arterijo prvič vzpostavi turbulenten tok krvi. Vrednost tlaka v manšeti v tem trenutku je približek sistoličnega pritiska. Sprva vse glasnejši, nato pa vse šibkejši toni so slišni ob vsaki naslednji sistoli, vse dokler ne izginejo, ko skozi

arterijo začne teči laminaren tok krvi. Zadnji ton, ki ga slišimo, imenujemo drugi Korotkovov ton in je približek diastoličnega tlaka.

Če meritve izvajamo pravilno, je posredno merjenje arterijskega tlaka dokaj natančno. V preglednici je podanih nekaj mogočih napak, na katere moramo biti pozorni.

Napaka /situacija	**Razlaga**
Manšeta ni primerne velikosti za osebo, ki ji bomo merili arterijski tlak.	Če je manšeta preširoka (dolžina vzdolž nadlahti !), lahko izmerimo nepravilno nizek arterijski tlak (in nasprotno).
Iz manšete ni iztisnjen ves zrak.	Če v manšeti ostane zrak, izmerimo previsok arterijski tlak, saj bomo za zatesnitev brahialne arterije potrebovali dodaten pritisk.
Roka z manšeto ni v višini srca.	Če je roka previsoko, dobimo prenizko vrednost (gravitacija) arterijskega tlaka (in nasprotno).
Spodnji rob manšete je nameščen prenizko.	Rob manšete mora biti nameščen dovolj visoko, da ne stiska membrane stetoskopa. S tem zmanjšamo zunanje motnje (npr. drgnjenje manšete ob membrano).
Manšeta ni ovita okrog roke enakomerno in trdno.	Pri ohlapno nameščeni manšeti potrebujemo višji tlak, da zatisnemo brahialno arterijo.
Preveč napihnjena manšeta.	Čutiti je bolečine, lahko tudi krče in posledično je meritev nepravilna. Oviran krvni pretok povzroča zastoj venske krvi v roki.
Merjenje na levi ali desni roki.	Zaradi anatomije je razdalja, ki jo kri prepotuje do leve brahialne arterije nekoliko daljša, zato je običajno tlak, izmerjen na levi roki, nekoliko nižji.

Delovni list 1

Arterijski tlak

Ime _____ Starost _____ Višina _____ Masa _____ Spol: M / Ž

	sistolični	diastolični	SAP	Pulzni tlak*
Sede – leva roka				
Sede – desna roka				
Leže				
Stoje				
Po vadbi				

* Razlika med sistoličnim in diastoličnim arterijskim tlakom.

Vprašanja

1. Opišite razlike v sistoličnem, diastoličnem, srednjem in pulznem arterijskem tlaku v različnih položajih telesa.
2. Kako se spremeni pulzni tlak med vadbo v primerjavi z mirovanjem? Kateri parameter se najbolj spremeni?
3. Zakaj srednjega arterijskega tlaka ne moremo enačiti s povprečjem med sistoličnim in diastoličnim tlakom? V kakšnih razmerah in zakaj bi se SAP približal povprečju med sistoličnim in diastoličnim pritiskom?
4. Zakaj se krvni tlak osebe v mirovanju, izmerjen na levi roki, lahko razlikuje od tistega izmerjenega na desni roki?

2.3.17 Maščoba, voda, mišice – telesna sestava pod drobnogledom

Dr. Lidija Križančić Bombek, Univerza v Mariboru,
Medicinska fakulteta, Inštitut za fiziologijo

Povzetek

Z osebno tehtnico za merjenje telesne sestave dijaki izmerijo telesno težo in deleža mišične in maščobne mase ter diskutirajo o razlikah v telesni sestavi med moškimi in ženskami. Med pomembne razloge za razlike vsekakor spada spol in z njim povezani hormoni, na drugi strani pa je eden najpomembnejših dejavnikov telesna dejavnost. Glede na svoj delež maščobne mase se vsak dijak uvrsti v eno izmed kategorij v klasifikaciji prehranjenosti telesa glede na odstotek maščevja.

Vsak dijak zase izračuna indeks telesne mase (količnik med telesno maso in kvadratom telesne višine) in svoj rezultat uvrsti v eno izmed kategorij v tabeli s klasifikacijo indeksov telesne mase. Dobljeno kategorijo primerja s kategorijo, ki jo je dobil pri klasifikaciji deležev telesne maščobe in komentira morebitne razlike med obema klasifikacijama. V diskusiji je pomembno osvetliti tudi to, da zvišan ITM ne pomeni vedno tudi velike količine maščevja v telesu, ampak je lahko posledica velike mišične mase, kar je pogosto pri športnikih, ki se ukvarjajo s športi, kjer je potrebna moč.

V diskusijo lahko vključimo tudi vpliv velikega deleža mišične mase na povečano porabo energije v telesu oziroma zmanjšano porabo energije v maščobnem tkivu, ki je presnovno slabo dejavno. Dijaki lahko s pomočjo rezultatov meritve količine vode v telesu diskutirajo tudi o količini vode v mišičnem tkivu (okoli 70 odstotkov) in količini vode v maščobnem tkivu (okoli 10 odstotkov) ter to povežejo z večjo oziroma manjšo mišično/maščobno maso.

Dijaki lahko sestavijo tabele, v katere na eno stran vpisujejo vrednosti izmerjenih parametrov za ženske in na drugo za moške[12]. Iz zbranih podatkov izračunajo povprečno telesno sestavo pri dijakinjah in dijakih ter diskutirajo o razlikah in razlogih zanje.

Čas za izvedbo dejavnosti

ena šolska ura: meritve, analiza rezultatov, izpolnjevanje delovnih listov in diskusija.

[12] *Tukaj naj bodo učitelji pozorni, da bo vpisovanje podatkov anonimno, da se izognejo neprijetnemu izpostavljanju posameznih dijakov. Lahko uporabijo na primer tudi podatke (brez imen) iz prejšnjih let, če so na voljo.*

Povezava z učnim načrtom

- B – Raziskovanje in poskusi
- C – Zgradba in delovanje celice
- F – Zgradba in delovanje organizmov
  - F4 – Zgradba in delovanje človeka in drugih živali

Izbirni program

- I – Biološke osnove zdravega življenja

Maturitetni program

- N – Fiziologija človeka

Dijaki razumejo:

- da se hranilne snovi porabijo za pridobivanje energije za poganjanje življenjskih procesov (celično dihanje) in za gradnjo lastnih organskih snovi, ki jih celica potrebuje (biomaso) ter da se neporabljene hranilne snovi začasno uskladiščijo (glikogen, maščoba);
- pomen uravnotežene prehrane za normalno delovanje človekovega telesa;
- oznake na živilih ter primerjajo energijsko vrednost ogljikovih hidratov, maščob in beljakovin, in to povežejo z možnimi načini uporabe teh snovi v organizmu (vir energije za pogon življenjskih procesov, gradniki za zgradnjo telesu lastnih snovi ali skladiščenje);
- merila, kdaj je nekdo predebel, normalno hranjen in podhranjen ter znajo izračunati indeks telesne mase;
- posledice čezmernega uživanja hrane z veliko ogljikovimi hidrati, maščobami in beljakovinami;
- pomen telesne dejavnosti za delovanje organskih sistemov in celotnega organizma;
- razliko med maščobami in ogljikovimi hidrati kot viri energije za celice, in to povežejo s preskrbo tkiv s kisikom (povezava med intenzivnostjo telesne dejavnosti, prostornino porabljenega kisika in deležem oksidacije maščob in ogljikovih hidratov);
- pojem telesna pripravljenost (»fitnes«), poznajo merila zanjo in pomen različnih fizičnih sposobnostih pri različnih dejavnostih.

Medpredmetne povezave/predznanja drugih predmetov

- predznanje iz *kemije*, *biologije* in *fizike*: potek kemičnih reakcij; poznavanje biokemičnih procesov v celicah (glikoliza, Krebsov cikel, dihalna veriga, razgradnja maščobnih kislin); poznavanje energijskih enot in njihovih medsebojnih pretvorb (džul, kalorija), merjenje, delo in energija, notranja energija in toplota, biološki temelji zdravega življenja, fiziologija človeka.

Spletne povezave

1 *Kalorične vrednosti živil. Portal Mobilni fitnes. Dostopno na: http://zdravo-hujsam.si/index.php?option=com_content&task=view&id=39&Itemid=77 (13. 3. 2013).*

2 *Merjenje kožne gube. Portal Hujšanje in sprememba načina življenja. Dostopno na: http://www.hujsanje.net/osebnitrener/sestava-telesa-in-merjenje-telesne-mascobe/ (13. 3. 2013).*

Literatura

1 *Ellis, K. J. (2000). »Human Body Composition: In Vivo Methods«. Physiological reviews 80 (2), 649–680.*

2 *McArdle, W. D., Katch, F. I., Katch, V. L. (2010). Exercise physiology: nutrition, energy, and human performance. 7th ed. Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore.*

3 *Stožer, A., Križančić Bombek, L., Dolenšek, J., Skelin, M. (2012). Izbrana poglavja iz fiziologije za študente medicine z navodili za vaje. Maribor: Medicinska fakulteta.*

Gradivo za učitelje

Maščoba, voda, mišice – telesna sestava pod drobnogledom

Uvod

Zdrava prehrana in telesna dejavnost sta v obdobju rasti ključnega pomena za ustrezen razvoj vseh organskih sistemov. Prav tako sta odločilnega pomena za zdravje v odrasli dobi. Kadar je vnos energije v obliki hrane v telo večji od njene porabe, se energija skladišči v obliki podkožnega in visceralnega (obdaja notranje organe) maščevja. Ob premajhnem vnosu hrane ali čezmerni porabi energije pa hujšamo. Za zdravje je poleg količinsko zadostnega vnosa hranil pomembno tudi, da zaužijemo vse vrste hranil (ogljikove hidrate, beljakovine in maščobe) pa tudi minerale in vitamine. Od vnosa hranil v telo ter njihovega metabolizma in telesne dejavnosti je odvisna telesna sestava vsakega posameznika. Povečanje mišične mase in zmanjšanje maščobne mase v telesu je povezano z redno telesno dejavnostjo. Na drugi strani pa pretežno sedeč način življenja z malo gibanja vpliva na kopičenje maščob v telesu ter zvišuje nevarnost nastanka srčno-žilnih obolenj.

1 Telesna sestava

Poznamo več modelov delitve telesa glede na telesno sestavo. Najenostavnejši model razdeli telo na maščobno tkivo in pusto telesno maso (esencialno ali nemaščobno tkivo), ki jo sestavljajo skeletne mišice, organi in kosti. Preglednica 1 prikazuje povprečno telesno sestavo zdravih odraslih moških in žensk.

Preglednica 1: Povprečna telesna sestava odraslih moških in žensk.

	Moški (% tel. mase)	Skupaj moški (%)	Ženske (% tel. mase)	Skupaj ženske (%)
mišična masa	45	85	36	73
kostna masa	15		12	
drugo	25		25	
esencialno maščevje	5	15	12	27
založno maščevje	12		15	

Pri vsakem posamezniku je telesna sestava nekoliko drugačna, saj je odvisna od njegovega spola (moški imajo več mišične mase, ženske pa več založnega maščevja), genetskih predispozicij, starosti, prehrane in telesne dejavnosti. Skeletne mišice v mirovanju porabljajo približno od 20 do 30 odstotkov stopnje bazalnega metabolizma[13], medtem ko je maščobno tkivo presnovno le slabo dejavno in ima predvsem skladiščno vlogo. S staranjem postajamo vse manj dejavni, zato se mišična masa zmanjšuje, količina maščevja pa povečuje. Posledica je zmanjševanje BMR.

Multikomponentni (večkomponentni) model človeškega telesa je sestavljen iz več ravni: atomske, molekularne, celične, tkivne (funkcionalne) in ravni celotnega tele-

[13] *Stopnja bazalnega metabolizma (angl. basal metabolic rate, BMR) je minimalna energija, potrebna za preživetje.*

sa. Za določitev posameznih komponent telesa so potrebne kompleksne in natančne meritve ter upoštevanje omejitev za vsako meritev (npr. bolezenska stanja, pri katerih se v telesu zadržuje čezmerna količina vode, dehidracija itd).

Preglednica 2: Povprečna telesna sestava 70 kg težkega odraslega človeka po multikomponentnem modelu – atomska raven.

Element	**Teža v kg**	**% tel. teže**
kisik	43	61
ogljik	16	23
vodik	7	10
dušik	1,8	2,6
kalcij	1	1,4
fosfor	0,58	0,83
žveplo	0,14	0,2
kalij	0,14	0,2
natrij	0,1	0,14
klor	0,1	0,14
magnezij	0,02	0,03

Molekularna raven telesne sestave deli telo glede na vrsto molekul, ki ga sestavljajo. V preglednici 3 je prikazana tipična sestava odrasle osebe.

Preglednica 3: Povprečna telesna sestava odraslega 70 kg težkega človeka po multikomponentnem modelu – molekularna raven.

Element	**Teža v kg**	**% tel. mase**
voda	42	60
beljakovine	12	17,1
maščobe	12	17,1
ogljikovi hidrati	4	5,8
rudnine		
ostalo		

Pri celični ravni telesne sestave je poudarek na vrsti molekul in njihovi lokalizaciji, kot prikazuje preglednica 4.

Preglednica 4: Povprečna telesna sestava odraslega 70 kg težkega človeka po multikomponentnem modelu – celična raven.

Sestavina	Teža v kg	% tel.mase
ekstracelularna voda	18	25,7
intracelularna voda	24	34,3
neesencialne maščobe	12	17,1
esencialne maščobe	1,5	2,1
beljakovine	10,6	15,1
rudnine	3,7	5,3
ostalo	0,2	0,3

Pri tkivni (funkcionalni) ravni telesne sestave je telo razdeljeno, kot prikazuje preglednica 5.

Preglednica 5: Povprečna telesna sestava odraslega 70 kg težkega človeka po multikomponentnem modelu – tkivna raven.

Tkivo- /-organ	Teža v kg	% tel. mase	Skupaj (%)
skeletno mišičje	28	40	40
podkožno maščevje	7,5	11	21,6
črevesno maščevje	5	7,1	
intersticijsko maščevje	1	1,4	
rumeni kostni mozeg	1,5	2,1	
kri	5,6	8	8
kostno tkivo	4	5,7	5,7
ostala tkiva	17,3	17,3	24,7

2 Merjenje telesne sestave

Telesno sestavo lahko določamo z denzitometrijo (podvodno tehtanje) tako, da potopimo telo v vodo in določimo njegovo gostoto. Iz razlike v teži telesa na suhem in v vodi izračunamo delež maščobnega tkiva v telesu. Pri tem upoštevamo specifično gostoto maščevja (0,9007g/cm^3) in esencialnega tkiva (1,100 g/cm^3) ter debeline kožnih gub na različnih delih telesa, pa tudi rezidualni volumen zraka v pljučih (zrak v črevesju običajno zanemarimo). Metoda je natančna, a podvržena napakam, saj ne upošteva medosebnih razlik v deležih telesne mase, ki jih predstavljajo kosti in organi, kar vpliva na specifično gostoto esencialnega tkiva. Telesno gostoto lahko določimo tudi z zračno pletizmografijo, kjer človeka z znano maso zapremo v komoro z znanim volumnom zraka in v strogo nadzorovanih pogojih (vlažnost, pritisk, plinska sestava, upoštevano dihanje človeka) izmerimo volumen izpodrinjenega zraka, iz česar izračunamo gostoto telesa.

Telesno sestavo lahko določamo radiološko, z računalniško tomografijo (CT) ali magnetno resonanco (MRI), ki pokažeta razporeditev različno gostih tkiv v telesu, ali z dvoenergetsko rentgensko absorpciometrijo (angl. *dual-energy X-ray absorptiometry*, DEXA), ki se je primarno uporablja le za lokalno merjenje kostne gostote, njene novejše izvedbe pa omogočajo tudi določanje gostote mehkih tkiv in kostne gostote celotnega telesa.

Najpogosteje za približno oceno telesne sestave uporabljamo merjenje kožne gube, kjer merimo debelino podkožnega maščevja (nadlahti, pasu, stegen, hrbta). Pri najpreprostejši izvedbi meritev opravimo na enem delu telesa (običajno na nadlahti) in vrednost posplošimo na vse telo. Zaradi enostavnosti in posploševanja je metoda nenatančna in močno odvisna od izkušenj izvajalca. Vrednost, ki jo izmerimo, predstavlja le količino podkožnega maščevja, ne pa tudi visceralnega, ki pri številnih ljudeh predstavlja znatni delež celotnega telesnega maščevja.

Enostavna in pogosta metoda za določanje telesne sestave je meritev na podlagi bioelektrične impedance (bioimpedance), pri kateri merimo električno prevodnost oziroma upornost telesa. Po dve elektrodi namestimo na eno roko (na zunanjo stran dlani in zapestje) in nogo (na nart in gleženj) na isti strani telesa, nato med elektrodama na zapestju in gležnju spustimo šibek električni tok. Električna prevodnost esencialnega tkiva je boljša kot prevodnost maščevja zaradi bistveno večje vsebnosti vode in elektrolitov. Na podlagi izmerjenih vrednosti električne upornosti, reaktivnosti, kapacitivnosti in faznega zamika električnega toka lahko izračunamo deleža maščevja in puste telesne mase. Prav tako lahko določimo deleža vode v zunaj- in znotrajceličnem prostoru. Glede na to, kam namestimo elektrode, nam bioimpedanca omogoča določanje sestave posameznih delov telesa, na primer noge, roke, trupa.

Osebne tehtnice[14], ki poleg telesne mase prikažejo tudi delež maščevja in mišične mase temeljijo na bioimpedanci. Tukaj so elektrode nameščene na zgornji površini tehtnice, kamor stopimo pri tehtanju. Pomembno je, da na elektrode stopimo bosi. Šibek električni tok nato potuje iz ene elektrode navzgor po eni nogi in navzdol po drugi – po najkrajši poti. Tkiva, ki jih tok prepotuje imajo različno upornost, reaktivnost in kapacitivnost, zato povzročijo nastanek faznega zamika v električnem toku, ki ga zazna druga elektroda. Na podlagi izmerjenih spremenljivk upornosti, reaktivnosti, kapacitivnosti in faznega zamika nam tehtnica poda deleža maščevja in mišične mase. Meritev je posplošena za celotno telo, a se moramo zavedati, da smo na takšen način dejansko izmerili le sestavo spodnjega dela telesa. Analogno velja za naprave za merjenje telesne sestave, ki jih držimo v rokah - izmerijo sestavo zgornjega dela telesa in jo posplošijo na celotno telo. Ker se pri različnih tipih ljudi (endomorfni, mezomorfni, ektomorfni) maščobno tkivo kopiči na različnih delih telesa, so lahko pri istem človeku meritve deleža telesne maščobe z različnimi aparaturami močno razlikujejo v odvisnosti od aparature, ki je bila uporabljena.

Meritev z bioimpedanco je odvisna od količine vode v telesu (hidriranosti), zato je nujno zagotoviti čim bolj optimalne pogoje merjenja. Oseba, katere telesno sestavo želimo določiti, ne sme uživati kave in alkohola vsaj 24 ur pred meritvijo in vsaj 4 ure pred meritvijo ne sme biti telesno zelo dejavna (npr. šport, savna ...), pri čemer bi s potenjem izgubila večjo količino vode (dehidriranost). V takšnih razmerah bi namreč dobili lažno previsok delež maščobnega tkiva zaradi slabše prevodnosti telesa.

[14] *Kupimo jih lahko v trgovinah z medicinskimi pripomočki, v zadnjem času pa tudi v bolje založenih trgovinah z gospodinjskimi aparati in tehniko.*

3 Somatotip

Ljudi lahko v grobem razdelimo v tri skupine glede na njihovo telesno postavo ali somatotip. Trije somatotipi se razlikujejo predvsem v razporeditvi telesnega maščevja ter proporcih posameznih delov telesa.

Endomorfen tip postave je tisti, pri katerem je telo hruškaste oblike, s težnjo po kopičenju maščevja okoli pasu, stegen in nadlahti. Glava je okrogla, boki in ramena široki, vrat pa čokat. Roke in noge so relativno kratke. Ta tip ljudi je nagnjen k hitremu pridobivanju telesne mase v obliki maščevja, zato je zanje še posebej pomembno, da so telesno dejavni. Telesna konstitucija jim daje prednost pri športih, ki zahtevajo moč (npr. dvigovanje uteži), prav tako pa so zaradi svoje razmeroma velike pljučne kapacitete lahko uspešni tudi v športih, kot je veslanje.

Pri mezomorfnem tipu postave je glava oglata, ramena široka in boki ozki. Okončine so mišičaste, količina maščevja pa majhna. Telo lahko hitro in učinkovito pridobi mišično maso in moč. Posamezniki s tem tipom postave so odlični v športih, kjer je potrebna hitrost, agilnost in moč. Uspešni so tudi v aerobnih športih.

Ljudje z ektomorfnim tipom postave imajo ozko glavo z visokim čelom, ozka ramena in boke, dolge okončine ter ozek prsni koš in pas. Količina mišične mase in maščevja je majhna, pridobivanje telesne mase je počasno, izgubijo pa jo hitro. Te osebe so vitke in zaradi majhne mišične mase nekoliko bolj podvržene športnim poškodbam kot druga dva tipa ljudi. Najprimernejši športi zanje so vzdržljivostni športi (tek in kolesarjenje na daljše razdalje), gimnastika, ples.

Različni ljudje imamo posamezne značilnosti vseh treh somatotipov, razlikujemo pa se po tem, kateri somatotip prevladuje in katere lastnosti preostalih dveh somatotipov imamo. Le malo ljudi bi lahko uvrstili izključno v en somatotip.

4 Indeks telesne mase (ITM)

Čezmerno prehranjenost ali podhranjenost lahko ocenimo z izračunom indeksa telesne mase (angl. *body mass index*, BMI, Preglednica 6), ki upošteva telesno težo in višino. Do napačnega vrednotenja ITM pride najpogosteje pri dobro treniranih športnikih, ki imajo višji delež mišične mase kot povprečni ljudje. Specifična gostota mišične mase je večja od gostote maščevja, zato je volumska enota mišic težja od volumske enote maščevja. Posledično so športniki pogosto uvrščeni v višjo kategorijo glede na ITM kot glede na delež maščevja. Podobno lahko ljudi z nizkim ITM in z malo mišične mase napačno uvrstimo med vitke (glede na % maščevja), pa je v resnici njihov delež maščevja normalen. ITM izračunamo po naslednji formuli:

$$\text{ITM} = (\text{telesna masa [kg]}) / (\text{telesna višina [m]})^2$$

Preglednica 6: Ocena prehranjenosti glede na indeks telesne mase (ITM)

	ITM
Podhranjeni	< 18,5
Normalni	18,5–24,9
Pretežki	25–29,9
Debeli	≥ 30

Preglednica 7: Odstotek (%) maščevja na telesno maso za starostno obdobje 20–40 let.

	Ženske	**Moški**
Izjemno vitki	10–15[16]	6–10
Vitki	16–19	11–14
Normalni	20–25	15–18
Pretežki	26–29	19–24
Debeli	> 30	> 25

5 Meritve pri laboratorijskem delu

Pri laboratorijskem delu dijakinje in dijaki izmerijo:

- telesno višino,
- telesno maso,
- delež maščobne mase v telesu,
- delež esencialnega(nemaščobnega) tkiva,
- delež telesne mase, ki ga predstavlja voda v telesu.

Za izvedbo meritev potrebujemo:

- osebno tehtnico z možnostjo merjenja odstotka maščobne in mišične mase, po možnosti pa tudi količine vode v telesu;
- če imamo na voljo kaliper za merjenje debeline kožne gube, lahko s pomočjo tabel ocenimo odstotek telesne maščobe. Postopek je opisan na spletnem naslovu *http://www.hujsanje.net/osebnitrener/sestava-telesa-in-merjenje-telesne-mascobe/* (13. 3. 2013).

[15] *Pri tako nizkem deležu maščevja se pogosto pojavi amenoreja – izostanek menstruacije.*

Delovni list 1

Telesna sestava

Ime in priimek _____

Tel. višina (cm) _____ Tel. masa (kg) _____ Starost (leta) _____

BMI (kg/m^2) _____ Spol: M / Ž

1. S tehtnico za merjenje telesne sestave izmeri svojo telesno sestavo in v tabelo vpiši vrednosti:

Analiza telesne sestave	
telesna masa	kg
masa esencialnega tkiva* (E)	kg
% esencialnega tkiva *(E/tel. masa)*	
masa telesne maščobe (M)	kg
% telesne maščobe *(M/tel. masa)*	
celotna količina vode v telesu (V)	L
% vode v telesu *(V/tel. masa)*	
% vode v esencialnem tkivu	

* esencialno tkivo vključuje mišično maso, maso organov, itd., ne vključuje pa maščobnega tkiva.

2. Glede na **svoj** indeks telesne mase (ITM) ter glede na **svoj** izmerjeni % telesne maščobe opredeli, ali sodiš med **izjemno vitke/vitke/normalne/pretežke/debele**. Pomagaj si s spodnjima preglednicama. Komentiraj morebitne razlike med obema klasifikacijama.

Preglednica 1: Ocena prehranjenosti glede na indeks telesne mase (ITM)

	ITM
Podhranjeni	< 18,5
Normalni	18,5–24,9
Pretežki	25–29,9
Debeli	≥ 30

Preglednica 2: Odstotek (%) maščevja na telesno maso za starostno obdobje 20–40 let.

	Ženske	**Moški**
Izjemno vitki	10–15	6–10
Vitki	16–19	11–14
Normalni	20–25	15–18
Pretežki	26 – 29	19 – 24
Debeli	> 30	> 25

Preverjanje in vrednotenje znanja

1. Kako se razlikuje povprečna sestava pri dijakinjah od povprečne sestave pri dijakih? Zakaj?
(*Običajno sta deleža mišične mase in količine vode v telesu večja pri moških, delež maščobne mase pa pri ženskah. Razlog so hormonske razlike med moškimi in ženskami (testosteron vpliva na zgradnjo mišične mase, estrogen pa na kopičenje maščob), pa tudi razlike v načinu življenja, saj so običajno moški telesno bolj dejavni.)*

2. Ali lahko na podlagi indeksa telesne mase (ITM) pri neki osebi sklepamo na deleža maščobnega in mišičnega tkiva v njegovem telesu?
(*Ne. Specifična gostota mišične mase je večja od gostote maščevja. Če ima oseba na primer ITM visok, je to lahko posledica prevelike količine maščobnega tkiva ali pa velike mišične mase in majhne količine maščevja – npr. nekateri športniki.)*

2.3.18 Tudi mišice oddajajo električne signale – elektromiogram (EMG)

Dr. Lidija Križančić Bombek, Univerza v Mariboru,
Medicinska fakulteta, Inštitut za fiziologijo

Povzetek

S pomočjo ročnega dinamometra in EKG-senzorja ter Vernierjevih vmesnikov dijaki izmerijo moč stiska leve in desne roke ter električne signale (elektromiogram, EMG), ki jih pri svoji dejavnosti oddajajo mišične ccelice. Dijaki opazujejo povezavo med jakostjo krčenja mišic podlahti (moč stiska) in električno dejavnostjo mišičnih celic. S pomočjo dinamometra izmerijo moč stiska dominantne (desna pri desničarjih) in nedominantne roke (leva pri desničarjih) ter ju primerjajo med seboj in razpravljajo o mogočih razlogih za razlike. Prav tako primerjajo moč stiska roke pri moških in ženskah. V nadaljevanju vaje z močnim in dolgotrajnim stiskanjem dinamometra povzročijo utrujanje mišic podlahti. Pri tem opazujejo upadanje moči stiska. Primerjajo hitrost utrujanja dominantne in nedominantne roke in razpravljajo o razlikah in razlogih zanje. Rezultate vpisujejo na delovni list, ki je na koncu vaje.

Čas za izvedbo dejavnosti

ena šolska ura: priprava aparature in zajemanje podatkov

ena šolska ura: analiza meritev, izpolnjevanje delovnih listov in diskusija

Povezava z učnim načrtom

- B – Raziskovanje in poskusi
- C – Zgradba in delovanje celice
- F – Zgradba in delovanje organizmov
    - F4 – Zgradba in delovanje človeka in drugih živali

Maturitetni program

- N – Fiziologija človeka

Dijaki razumejo:

- da celice običajno energijo, ki se sprošča v presnovnih procesih, začasno shranjujejo v fosfatnih vezeh energetsko bogate molekule – ATP;
- da je ATP v vseh živih bitjih neposredni vir energije za poganjanje bioloških procesov in da celice obnavljajo ATP ob razgradnji organskih molekul (glikoliza, celično dihanje, alkoholno in mlečnokislinsko vrenje);

- da med celičnim dihanjem glukoza v citoplazmi razpade med procesom glikolize v manjše organske molekule, pri tem se obnovi majhna količina ATP;
- da med celičnim dihanjem piruvat v mitohondrijih razpade v ogljikov dioksid in vodik, ki se veže s kisikom v vodo; pri tem se na membrani mitohondrija obnovi večja količina ATP;
- spoznajo, da so osnovni princip delovanja živčnih celic električni fenomeni, ki so posledica delovanja membranskih beljakovin (ionskih kanalov in ionskih črpalk) in s tem povezane porazdelitve in pretoka ionov skozi celično membrano;
- nastanek mirovnega membranskega potenciala, razumejo princip nastanka vzburjenja in njegovega prevajanja vzdolž živčnega vlakna ter poznajo vpliv mielinizacije na hitrost prevajanja vzburjenja;
- način delovanja kemične sinapse;
- zgradbo prečno-progaste skeletne mišice in jo povežejo z njenim delovanjem.

Medpredmetne povezave/predznanja drugih predmetov

- Predznanje iz *kemije*, *biologije* in *fizike*: potek kemičnih reakcij; poznavanje biokemičnih procesov v celicah (glikoliza, Krebsov cikel, dihalna veriga, razgradnja maščobnih kislin); poznavanje energijskih enot in njihovih medsebojnih pretvorb (džiul, kalorija)

Literatura

1 *Berne, R. M., Levy, M. N., Koeppen, B. M., Stanton, B. A. (2004). Physiology. 5th ed. St. Louis: Mosby, An affiliate of Elsevier Science.*

2 *Guyton, A. C., Hall, J. E. (2011). Textbook of Medical Physiology. 12th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier.*

3 *Stožer, A., Križančić Bombek, L., Dolenšek, J., Skelin, M. (2012). Izbrana poglavja iz fiziologije za študente medicine z navodili za vaje. Maribor: Medicinska fakulteta, Univerza v Mariboru.*

Učni list 1

Tudi mišice oddajajo električne signale – elektromiogram (EMG)

Zavestno krčenje mišic je rezultat komunikacije med možgani in mišičnimi vlakni. Signal iz možganov potuje po α-motonevronu v obliki električnih impulzov do živčno-mišičnega stika – motorične ploščice, kjer vzdraži mišično celico, da se ta začne krčiti. α-motonevron je na koncu razcepljen v več dendritov, od katerih vsak oživči svoje mišično vlakno. Posamezni α-motonevron in vsa mišična vlakna, ki jih oživčuje, imenujemo motorična enota. Običajno je posamezna mišica v telesu sestavljena iz veliko motoričnih enot, torej oživčena z veliko motonevroni.

Posamezno mišično vlakno se na draženje odzove z odgovorom »vse ali nič«, kar pomeni, da se ob zadostni stimulaciji maksimalno skrči ali se sploh ne skrči, če stimulacija ni dovolj močna. Jakost krčenja celotne mišice pa ne sledi zakonu »vse ali nič«, ampak je odvisna od števila vzdraženih mišičnih vlaken. S pomočjo elektrod, prilepljenih na kožo nad mišico, lahko zaznamo in izmerimo električno dejavnost mišičnih vlaken. Posnetek, ki ga dobimo, imenujemo elektromiogram – EMG. Izmerjena električna dejavnost je sorazmerna s številom aktiviranih mišičnih vlaken oziroma z jakostjo krčenja.

Redna vadba je pomembna za ohranjanje ali povečanje mišične moči. Najpogostejša oblika vadbe za moč je dvigovanje bremena, pri čemer je napetost v mišici stalna, njena dolžina pa se spreminja (izotonična kontrakcija). Pri držanju bremena v isti poziciji se veča napetost v mišici, medtem ko njena dolžina ostaja nespremenjena (izometrična kontrakcija).

Posledica mišičnega dela je utrujanje mišice, ki se kaže kot zmanjšana sposobnost proizvajanja moči. Fiziološki mehanizmi, ki povzročijo utrujanje, so različni in vključujejo izrabo energetskih virov, kopičenje metabolitov anaerobnega metabolizma (mlečna kislina), znižanje pH in še mnoge druge. Z redno vadbo lahko izboljšamo vzdržljivost in moč mišic in tako zakasnimo pojav utrujenosti.

Gradivo za učitelje

Tudi mišice oddajajo električne signale – elektromiogram (EMG)

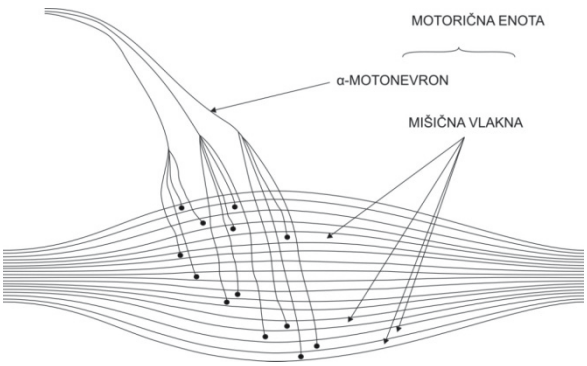
1 Uvod

Skeletno mišično tkivo s svojim krčenjem omogoča izvajanje gibov. Mišice so oživčene z α-motonevroni, ki vodijo iz centralnega živčevja proti periferiji do skeletnih mišic.

Vsako mišico sestavljajo mišična vlakna, ki jih v grobem delimo na dva tipa. Glede na vrsto miozina in njihov prevladujoči metabolizem ločimo počasna in hitra mišična vlakna. Počasna mišična vlakna (tip I; angl. *slow twitch*) so pod mikroskopom »rdečkaste barve«, saj vsebujejo veliko mioglobina in so obdana s številnimi kapilarami, ki jih oskrbujejo s kisikom. Prevladuje aerobni (oksidativni) metabolizem, v katerem kot glavni energetski vir porabljajo trigliceride (triacilglicerole). Ta vlakna so odporna proti utrujanju in sposobna nekajurnega krčenja, zato so ključnega pomena pri dejavnostih, ki zahtevajo vzdržljivost. Hitra mišična vlakna (tip II, angl. *fast twitch*) so »bela« zaradi več glikogena in manj mioglobina. Prevladuje razgradnja glikogena in fosfokreatina, ki potekata v anaerobnih pogojih, imajo pa tudi aerobni metabolizem. Oba omenjena energenta sta kratkotrajna vira energije, zato se ta vlakna v največ nekaj minutah utrudijo. Hitra mišična vlakna delimo na podtipe glede na vrsto miozina, hitrost utrujanja in moč krčenja. V posamezni mišici sta prisotna oba tipa in vsi podtipi mišičnih vlaken (njihovi deleži so odvisni od vloge mišice v telesu).

2 Motorična enota

Posamezni α-motonevron običajno oživčuje različno število mišičnih vlaken, a so ta vlakna istega tipa. Enoto, ki jo sestavljajo α-motonevron in vsa pripadajoča mišična vlakna, imenujemo motorična enota (slika 1). Večino mišic sestavlja več motoričnih enot, njihova velikost pa je odvisna od funkcije mišice. Večje število manjših motoričnih enot omogoča večji nadzor nad krčenjem mišice. Primer so mišice prstov na roki, ki imajo zelo majhne motorične enote, saj so za prstne gibe potrebni zelo natančni premiki.



Slika 1: Motorična enota. (Vir: Stožer in sod. 2012)

Motorične enote so pomembne za stopenjsko krčenje mišice. Pri dvigovanju (izotonična kontrakcija) lahkega predmeta se aktivira manj majhnih motoričnih enot kot pri dvigovanju večjega predmeta. Tudi aktivacija vlaken posameznega tipa je odvis-

na od obremenitve. Pri majhnih obremenitvah so aktivirane predvsem motorične enote s počasnimi mišičnimi vlakni (tip I), ki so šibkejše. Pri večji obremenitvi se majhnim šibkim motoričnim enotam postopoma pridružijo večje motorične enote in tiste z vlakni tipa II. Takšna postopna aktivacija se imenuje rekrutacija ali nabor motoričnih enot in jo koordinirajo možgani na podlagi senzoričnih informacij receptorjev na nateg (angl. *stretch receptors*) v sami mišici, njenih kitah in sklepnih ovojnicah. Rekrutacija lahko poteka na dva načina: s povečanjem števila hkrati aktivnih motoričnih enot – prostorska rekrutacija ali z zvišanjem frekvence akcijskih potencialov na α-motonevronu vsake motorične enote – časovna rekrutacija. Pri manjših obremenitvah prevladuje prostorska rekrutacija, pri večjih obremenitvah pa sta pomembna oba tipa rekrutacije. Snop mišičnih vlaken s presekom 1 cm^2 je sposoben proizvesti silo 30–40 N in se ne razlikuje med moškimi in ženskami. Pri ženskah je običajno moč posamezne mišica manjša, ker je presek mišice manjši zaradi manjše telesne velikosti in manjše mišične mase celega telesa (glejte vajo »Telesna sestava«).

Motorične enote v mišici se pri držanju lahkega bremena (izometrična kontrakcija) aktivirajo izmenično. Na ta način je omogočeno obnavljanje energetskih zalog tistih mišičnih vlaken, ki so bila dejavna, medtem ko druga vlakna breme držijo. Seveda pa takšno izmenjevanje vlaken ne more potekati neskončno dolgo, saj je obnova energije v mišičnih vlaknih daljša od časa, ko so ta lahko dejavna. Posledično v mišici »zmanjka« popolnoma spočitih vlaken in postopoma nastopi utrujenost.

3 Utrujanje mišic

Utrujenost mišice se pojavi pri trajajočem zmernem delu ali pri zelo intenzivnem kratkotrajnem delu. Opredeljena je kot zmanjšana sposobnost proizvajanja sile. Vzroki zanjo so centralni ali periferni, pri čemer centralni zajemajo zmanjšano aktivacijo motoričnih enot iz možganov ali neposredno inhibicijo α-motonevronov zaradi spremenjenih povratnih informacij receptorjev na nateg v mišici. Periferni vzroki utrujenosti so lahko posledica izrabe energetskih virov ali sprememb pri prenosu signala z živčne na mišično celico (manjše število veziklov z nevrotransmitorjem, zmanjšana občutljivost receptorjev) ali biokemičnega neravnovesja, ki je povezano s krčenjem (zmanjšano prevajanje impulzov po mišičnem vlaknu zaradi zvišane koncentracije K^+ v T-tubulih ali znižane znotrajcelične koncentracije Ca^{2+}). Poleg naštetega lahko pride do poškodb krčljivih beljakovin v sarkomerah zaradi prevelikega raztezanja mišičnih vlaken (zelo velike ali sunkovite obremenitve, ekscentrične kontrakcije). Najpogosteje je utrujenost posledica stranskih produktov intenzivnega mišičnega metabolizma (predvsem anaerobnega) in mikropoškodb mišičnih vlaken (vnetni dejavniki, lokalna oteklina, reaktivni kisikovi radikali, ki pospešijo mikropoškodbe in izločanje vnetnih signalnih molekul, lokalno kopičenje produktov, kot so mlečna kislina, adenozin, fosfat).

Anaerobni mišični metabolizem, ki pri zelo intenzivnem krčenju poteka v povečanem obsegu, je najpogostejši razlog mišične utrujenosti. Pri razgradnji glukoze do piruvata (glikoliza) je glavni produkt mlečna kislina, ki disociira na laktat in protone. Slednji znižajo pH v mišicah, vendar pri fizioloških temperaturah znižani pH nima velikega neposrednega učinka na krčenje in utrujanje. Utrujanje najverjetneje nastopi kot refleksno zmajšanje aktivacije motonevronov zaradi povratne informacije o občutku neugodja v mišicah (centralna utrujenost).

Drugi vir energije za anaerobni metabolizem je fosfokreatin, ki hidrolizira na kreatin in fosfat. Slednji vpliva na krčenje mišic tako, da zmanjša občutljivost na Ca^{2+} ali zavira ponovni privzem Ca^{2+} v sarkoplazemski retikulum ali zmanjša sproščanje Ca^{2+} iz sarkoplazemskega retikuluma tako, da vstopi vanj, se veže s prostim Ca^{2+} in tvori oborino kalcijevega fosfata.

4 Elektromiografija

Aktivacijo motoričnih enot lahko zaznamo kot spremembe membranskega potenciala na plazmalemi mišičnih vlaken. Posamezne spremembe so šibke (od < 50 µV do 20–30 mV), vendar spremembo mišične dejavnosti lahko zaznamo celo preko kože, saj se ob aktivaciji motoričnih enot vzdraži veliko mišičnih vlaken, skupna električna sprememba pa je dovolj velika, da jo lahko izmerimo. Zaznavanje, ojačanje in snemanje takšnih sprememb v napetosti kože imenujemo elektromiografija. Analiza elektromiograma (EMG) nam omogoča opazovanje rekrutacije motoričnih enot ali biomehanično analizo gibanja, prav tako pa je pomembna pri odkrivanju raznih bolezni živčno-mišičnega sistema. Pri površinski elektromiografiji prilepimo elektrode na kožo nad mišico in snemamo električne spremembe večjega dela mišice, pri intramuskularni pa tanke elektrode zabodemo neposredno v mišico in snemamo le električne spremembe na najbližjih mišičnih vlaknih.

5 Meritve pri laboratorijskem delu

Pri laboratorijskem delu dijakinje in dijaki izmerijo:

- EMG pri različno močnih stiskih pesti pri dominantni in nedominantni roki,
- EMG in silo stiska dinamometra pri dominantni in nedominantni roki,
- utrujanje mišice pri dominantni in nedominantni roki.

Če imamo na voljo več kompletov Vernierjevih vmesnikov in senzorjev, oblikujemo skupine po 3–4 dijake. Vajo lahko izvedemo tudi kot demonstracijo z eno testno osebo.

Za izvedbo meritev potrebujemo:

- Vernier LabQuest vmesnik (LABQ),
- ročni dinamometer (HD-BTA),
- EKG-senzor (EKG-BTA),
- elektrodne priključke.

Navodilo za delo z Vernierjevim vmesnikom in senzorji

Sila stiska pesti dominantne in nedominantne roke

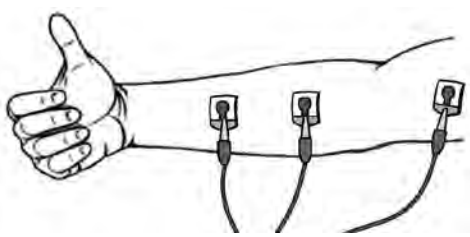
1. Priključimo ročni dinamometer na Vernierjev vmesnik.
2. Odpremo datoteko »*16 Compare Grip Strength*« v mapi *Human Physiology with Vernier*.
3. Umerimo ročni dinamometer, da določimo ničelno vrednost sile. Dinamometer držimo ob straneh v navpičnem položaju in nanj ne izvajamo nobene sile. Kliknemo gumb »*Ø Zero*« (Slika 2).

Slika 2: Prijem ročnega dinamometra pri umerjanju in položaj testne osebe pri izvajanju meritev. (Vir: Vernier)

4. Testna oseba naj sedi vzravnano na stolu z dinamometrom v desni (dominantni) roki. Komolec naj bo pokrčen pod kotom 90°, roka pa naj se ne naslanja nikamor.
5. Testna oseba naj ima oči zaprte ali je obrnjena proč od zaslona, kjer se izpisuje meritev.
6. Z ukazom »*Collect*« začnemo zajemati podatke. Najprej počakamo tri sekunde, nato testna oseba stisne dinamometer maksimalno močno in zadrži stisk od štiri do pet sekund. Podatki se bodo zajemali skupno deset sekund.
7. Shranimo posnetek tako, da izberemo ukaz »*Store Latest Run*« v meniju »*Experiment*«.
8. Korake 4–6 ponovimo z nedominantno roko.
9. Celotno vajo ponovimo še pri drugih osebah.

EMG dominantne in nedominantne roke pri različno močnih stiskih

1. Priključimo ročni dinamometer in EKG-senzor na Vernierjev vmesnik in odpremo datoteko »*18 EMG and Muscle Fatigue*« v mapi *Human Physiology with Vernier*.
2. Umerimo ročni dinamometer; pritisnemo gumb »*Ø Zero*«, dinamometer držimo ob straneh v navpičnem položaju in nanj ne izvajamo nobene sile (Slika 1). Kliknemo okvirček pred senzorjem »*Hand Dynamometer*«, da ga izberemo, in pritisnemo gumb »*OK*«.
3. Prilepimo tri elektrodne priključke na notranjo stran podlahti dominantne roke, kot prikazuje slika 2: en elektrodni priključek 5 cm in drugega 10 cm od medialnega epikondila vzdolž navidezne linije, ki povezuje epikondil in sredinski prst. Tretji elektrodni priključek prilepimo na notranjo stran nadlahti 5 cm nad epikondilom.



Slika 3: Postavitev elektrodnih priključkov (Vir: Vernier).

4. Povežemo rdečo in zeleno elektrodo (vrstni red ni pomemben) z elektrodnima priključkoma na podlahti ter črno elektrodo s tistim na nadlahti.
5. Testna oseba naj sedi s komolcem pokrčenim za 90°, kot prikazuje slika 2. Oči naj ima zaprte ali je obrnjena stran od zaslona, kjer se izpisuje meritev.
6. Treba bo izvesti štiri zaporedne stiske dinamometra. Prvi stisk bo najšibkejši, vsak naslednji nekoliko močnejši in zadnji maksimalen. Z ukazom »*Collect*« začnemo zajemati podatke.
7. Testna oseba naj najprej počaka dve sekundi in medtem ne izvaja nobene sile na dinamometer. Nato naj prvič rahlo (!) stisne dinamometer, zadrži stisk dve sekundi in sprosti roko. Počaka dve sekundi, izvede drugi nekoliko močnejši 2-sekundni stisk in znova sprosti roko. Postopek ponovi še dvakrat. Zadnji stisk naj bo maksimalno močen. Celotno zajemanje podatkov traja 100 sekund, nato posnetek shranimo.
8. Celotno vajo ponovimo z nedominantno roko.
9. Celotno vajo ponovimo pri različnih testnih osebah.

Razširitev vaje: Pri tej vaji lahko poleg sile stiskanja in EMG-odzivov opazujemo tudi spreminjnje tonusa mišice na intervalih med posameznimi stiski. *Tonus* je stanje stalne napetosti v mišici, ki jo ohranja v pripravljenosti. Vzpostavljajo in ohranjajo ga motorični centri v možganih in hrbtenjači, ki aktivirajo majhno število motoričnih enot. Pred prvim stiskom, ko je roka najbolj sproščena, je tonus mišice najmanjši in običajno znaša 3–5 % maksimalne sile stiska. Pred vsakim naslednjim stiskom je tonus večji, saj dve sekundi nista dovolj, da bi se mišica v celoti sprostila, prav tako pa jo možgani pripravljajo na naslednji stisk, za katerega testirana oseba ve, da bo moral biti močnejši od prejšnjega (vpliv centralnega živčnega sistema).

Utrujanje mišice

1. Priključimo ročni dinamometer in EKG-senzor na Vernierjev vmesnik in odpremo datoteko »*18 EMG and Muscle Fatigue*« v mapi *Human Physiology with Vernier*.
2. Umerimo ročni dinamometer; pritisnemo gumb »*Ø Zero*«, dinamometer držimo ob straneh v navpičnem položaju in nanj ne izvajamo nobene sile (slika 1). Kliknemo okvirček pred senzorjem »*Hand Dynamometer*«, da ga izberemo, in pritisnemo gumb »*OK*«.
3. Prilepmo tri elektrodne priključke in jih povežemo z elektrodami kot pri zgornji nalogi »EMG dominantne in nedominantne roke pri različno močnih stiskih«.
4. Testna oseba naj sedi s komolcem pokrčenim za 90°, kot prikazuje slika 2. Oči naj ima zaprte ali je obrnjena stran od zaslona, kjer se izpisuje meritev.
5. Oseba naj maksimalno močno stisne dinamometer in ga drži maksimalno (!!!) stisnjen, dokler lahko. Meritev ustavimo šele, ko sila stiska pade pod polovico začetne vrednosti ali po preteku 100 sekund, kolikor traja zajemanje podatkov.
6. Celotno vajo ponovimo z nedominantno roko.
7. Celotno vajo ponovimo pri različnih testnih osebah.

Delovni list

Elektromiogram

Podatki o testirani osebi: Ime _____ Starost: _____ Spol: M / Ž

A. Sila stiska pesti dominantne in nedominantne roke

Preglednica 1: Maksimalna in povprečna sila stiska.

	Maksimalna sila stiska [*N*]*	Povprečna sila stiska [*N*]*
Dominantna roka		
Nedominantna roka		

* S kurzorjem označimo zgornji del območja na grafu, kjer je oseba stiskala dinamometer, nato pritisnemo gumb za statistiko in označimo »Run 1« ter »Latest«. Odčitamo vrednosti za maksimalno in povprečno silo na označenem delu.

Preglednica 2: Primerjava maksimalne sile stiska dominantne roke različnih oseb.

	Povprečje pri moških	Povprečje pri ženskah
Dominantna roka		
Nedominantna roka		

Vprašanja v razmislek

1. Primerjajte silo maksimalnega stiska dominantne in nedominantne roke. Kateri dejavniki prispevajo k opaženim razlikam v moči stiska rok?
2. Ali so med moškimi in ženskami razlike? Zakaj?

B. EMG dominantne in nedominantne roke pri različno močnih stiskih

Preglednica 3: EMG in sila stiska.

	Dominantna roka		**Nedominantna roka**	
	Sila na vrhu* [*N*]	EMG** [ΔmV]	Sila na vrhu* [*N*]	EMG** [ΔmV]
1.stisk				
2.stisk				
3.stisk				
4.stisk (maksimalen)				

* Označimo le zgornji del (plato) posameznega stiska na grafu sile (zgornji graf), nato pritisnemo gumb za statistiko in odčitamo vrednost za povprečno silo na označenem delu.

** Na grafu EMG (spodnji graf) označimo zgornji del posameznega stiska, pritisnemo gumb za statistiko in odčitamo maksimalno ter minimalno vrednost EMG na označenem delu. Vrednosti odštejemo in razliko vpišemo v tabelo kot ΔmV.

Vprašanja v razmislek

1. Opišite povezavo med spreminjanjem sile stiska in EMG.
2. Ali se EMG-posnetka pri maksimalnem stisku pri dominantni in nedominantni roki razlikujeta? Komentirajte morebitne razlike.

C. Utrujanje mišice

Preglednica 4: Utrujanje mišice.

	Dominantna roka		**Nedominantna roka**	
	Maksimalna sila* [*N*]	Čas do 50 % maks. sile** [*s*]	Maksimalna sila* [*N*]	Čas do 50 % maks. sile** [*s*]
1.oseba				
2.oseba				
3.oseba				

* Na grafu sile (zgornji graf) označimo manjši interval, ki zajema maksimalen stisk, pritisnemo gumb za statistiko in odčitamo maksimalno vrednost na označenem intervalu.

** Na grafu sile označimo interval, ki sega od točke z maksimalno silo do točke, kjer je sila padla približno na polovico izmerjene maksimalne sile, in odčitamo čas (Δt), v katerem se je to zgodilo.

Vprašanja v razmislek

1. Pri utrujenosti se sila, ki jo izvaja mišica, zmanjšuje. Kateri fiziološki procesi pojasnjujejo upad moči?
2. Ali se hitrost utrujanja dominantne in nedominantne roke razlikuje? Zakaj?

Preverjanje in vrednotenje znanja

1. Ali se lahko motorična enota skrči le delno – le nekatera mišična vlakna v njej?
   (*Ne. Motorična enota je oživčena z enim motonevronom. Če se le-ta vzdraži, se aktivirajo in skrčijo vsa mišična vlakna v tej motorični enoti. Odgovor je »vse ali nič«.)*
2. Kaj je elektromiogram?
   (*Posnetek električne dejavnosti mišičnih celic, ki ga običajno zaznamo z elektrodami nalepljenimi na kožo nad mišico*.)
3. Kako opazimo, da se je mišica utrudila?
   (*Sila, ki jo lahko proizvede, je zmanjšana v primerjavi s spočito mišico*.)

2.3.19 Določanje širine vidnega polja človeka s »perimetrom«

Dr. Lidija Križančić Bombek, Univerza v Mariboru,
Medicinska fakulteta, Inštitut za fiziologijo

Povzetek

Med pripravo na eksperimentalno delo bodo dijaki iz papirnatega traku najprej izdelali preprost perimeter, s katerim bodo določali širino vidnega polja v vodoravni smeri. V prvem delu vaje si bodo pokrili eno oko, z drugim pa nepremično strmeli v sredino perimetra, pri čemer bodo opazovali, kako daleč v levo in desno stran še vidijo premikajočo-se belo svetlobno točko. Tako bodo določili prostorski kot, ki ga vidijo s posameznim očesom. Vajo bodo ponovili z drugim očesom, nato pa ugotavljali, koliko se vidni polji obeh očes prekrivata oziroma do kod seže binokularni vid, kje pa je vid monokularen. V drugem delu vaje bodo določili lego (prostorski kot) slepe pege za vsako oko posebej in razpravljali, zakaj kljub slepi pegi v tistem delu vidnega polja vidimo. V nadaljevanju eksperimentalnega dela bodo belo svetlobo zamenjali za barvno (uporabili bodo tri različne barve). Pri določanju širine vidnega polja za barve bodo posebej pozorni na to, do katerega prostorskega kota vidijo barvno točko in od kod dalje svetlobna točka »izgubi« barvo (a točko še zmeraj vidijo). Vajo bodo ponovili s svetlobnimi točkami različnih barv, nato pa dobljene rezultate o širini vidnega polja primerjali s širino vidnega polja za belo svetlobo. V diskusiji bodo razpravljeli o razlikah v širini vidnega polja pri različnih osebah (glede na lego očesnih zrkel, velikosti nosu in drugih anatomskih značilnosti obraza), pogovarjali se bodo o legi slepe pege in ugotavljali, kako se razlikuje širina vidnega polja za različne barve signala. Rezultate in odgovore bodo vpisali na delovne liste, ki so na koncu vaje.

Čas za izvedbo dejavnosti

Dve šolski uri: izdelava perimetra 30 minut, meritve 30 minut, analiza rezultatov in diskusija 30 minut.

Povezava z učnim načrtom

- B – Raziskovanje in poskusi
- C – Zgradba in delovanje celice
- F – Zgradba in delovanje organizmov
    - F4 – Zgradba in delovanje človeka in drugih živali

Maturitetni program

- N – Fiziologija človeka

Dijaki razumejo:

- da imajo živali čutila, s katerimi sprejemajo dražljaje iz okolja;
- da so čutila zgrajena iz specializiranih celic;
- da so osnovni princip delovanja živčnih celic električni fenomeni, ki so posledica delovanja membranskih beljakovin (ionskih kanalov in ionskih črpalk) in s tem povezane porazdelitve in pretoka ionov skozi celično membrano;
- nastanek mirovnega membranskega potenciala, princip nastanka vzburjenja in njegovega prevajanja vzdolž živčnega vlakna.

Medpredmetne povezave/predznanja drugih predmetov

- predznanje iz *matematike*: prostorski kot, kotne stopinje, izsek kroga;
- predznanje iz *fizike*: valovna dolžina, vidni spekter svetlobe

Literatura

1 *Despopolous, A., Silbernagl, S. (2003). Color atlas of physiology. New York: Thieme.*

2 *Purves, D. (2004). Neuroscience. Massachusetts: Sinauer Associates, str. 229–282.*

3 *Guyton, A. C., Hall, J. E. (2006). Textbook of medical physiology. Philadelphia: Elsevier Sounders, str. 626–639.*

4 *Stožer, A., Križančić Bombek, L., Dolenšek, J., Skelin, M. (2012). Izbrana poglavja iz fiziologije za študente medicine z navodili za vaje. Maribor: Univerza v Mariboru, Medicinska fakulteta.*

Učni list 1

Določanje širine vidnega polja človeka s »perimetrom«

Človeško oko gradijo na sprednjem delu roženica, šarenica in leča. Roženica se zadaj nadaljuje v beločnico. Na notranji strani beločnice je žilnica[16], pod njo pa večplastna mrežnica, ki vsebuje poleg številnih drugih vrst celic tudi svetlobne čutnice (fotoreceptorje). To so specializirane celice v očesu, ki so se sposobne odzvati na svetlobne dražljaje. Ločimo paličnice in čepnice. Prve nam omogočajo gledanje ob šibki osvetlitvi prostora, druge pa razlikovanje barv, a le če je osvetlitev dovolj dobra. Čepnice so najgosteje razporejene v fovei (*fovea centralis*)[17] in se proti periferiji naglo redčijo. Paličnic v fovei ni, najgosteje so razporejene 20–30° lateralno od fovee, nato pa proti periferiji postopno čedalje redkeje.

Svetlobne čutnice so prek bipolarnih celic povezane z ganglijskimi celicami, katerih dolgi aksoni se združijo v optični živec in nosijo vidno informacijo v možgane. Na mestu, kjer iz mrežnice izhaja vidni živec, svetlobnih čutnic ni. To mesto imenujemo slepa pega. Svetlobnih žarkov, ki iz naše okolice padejo na slepo pego očesa, s tem očesom ne vidimo.

Iz prostora, ki nas obdaja, svetloba pada v oko, kjer jo roženica in leča usmerita na mrežnico. Prostorski kot, iz katerega oko sprejema svetlobo ob nepremičnem pogledu in položaju glave, imenujemo vidno polje tega očesa. Velik del vidnega polja obeh očes se prekriva, kar nam omogoča binokularni vid in globinsko predstavo. Določanje velikosti vidnega polja nam omogoča perimetrija, pri kateri s pomočjo svetlobne točke, ki jo premikamo, določimo skrajne meje v prostoru, do koder posamezno oko še vidi to svetlobno točko.

Glede na razporeditev svetlobnih čutnic na mrežnici, se vidno polje za belo in za posamezne barve razlikuje, saj na periferiji vidnega polja čepnic skorajda ni. Zato tam ne vidimo barv, ampak le različne jakosti bele svetlobe.

16 *Plast je prepredena s številnimi kapilarami, ki prehranjujejo mrežnico.*

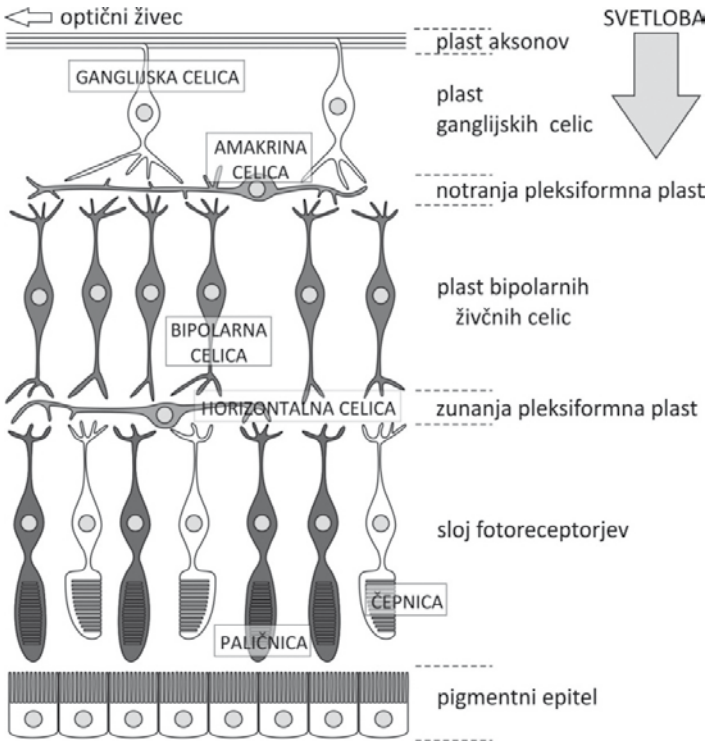
17 *Fovea centralis je osrednji del rumene pege (lat. macula lutea).*

Gradivo za učitelje

Določanje širine vidnega polja človeka s »perimetrom«

1 Zgradba mrežnice

Notranja površina očesnega zrkla je prekrita z mrežnico (retino), ki je zgrajena iz več plasti (slika 1). Njena najbolj zunanja plast je pigmentni epitel, ki vsebuje črni pigment melanin za absorbcijo svetlobe, ki pade mimo svetlobnih čutnic. Pigmentni epitel sodeluje tudi pri obnovi svetlobnih čutnic in skladiščenju vitamina A. Notranja – nevralna plast mrežnice je iz sloja svetlobnih čutnic (ob pigmentnem epitelu), plasti horizontalnih živčnih celic, plasti bipolarnih živčnih celic, plasti amakrinih celic in plasti ganglijskih celic. Aksoni ganglijskih celic se združujejo v vidni živec, ki zapusti očesno zrklo na področju, imenovanem slepa pega. To je področje, kjer svetlobnih čutnic ni, zato svetlobe, ki pade na to mesto, ne vidimo. Aksoni ganglijskih celic so na področju mrežnice nemielinizirani, zato je pot svetlobe na mrežnico neovirana.



Slika 1: Shema zgradbe mrežnice (Vir: Stožer s sod.).

Področje na mrežnici, kjer so aksoni ganglijskih celic razmaknjeni in gostota svetlobnih čutnic (čepnic) največja, je *fovea centralis*. Tukaj je vid najostrejši.

2 Svetlobne čutnice (fotoreceptorji)

Zaznavanje s pomočjo vida se začne na mrežnici, kjer svetlobne čutnice (specializirane čutilne celice, ki so del centralnega živčnega sistema in se ne delijo) sprejmejo svetlobne dražljaje in jih pretvorijo v električne. Organizacija mrežnice v plasti različnih celic omogoči prenos delno procesirane informacije v možgane.

Ljudje imamo dve vrsti svetlobnih čutnic. Paličnice nam omogočajo zaznavanje šibke svetlobe, ne pa razlikovanja barv. V vsakem očesu jih je okoli 120 milijonov in so približno 100-krat bolj občutljive kot drugi tip svetlobnih čutnic – čepnice. Teh je v vsakem očesu od šest do sedem milijonov, odgovorne pa so za razlikovanje barv. Aktivirajo se le ob močni svetlobi, zato z njimi v mraku ne vidimo, torej tudi barv v mraku ne razlikujemo. Razporeditev svetlobnih čutnic na mrežnici ni enakomerna. Čepnice so najgostejše v fovei centralis (~150000–200000/mm$^{2)}$ in se proti periferiji naglo redčijo, tako da se 10° iz fovee njihova gostota razpolovi, 30° iz fovee pa jih je le še okoli ~5000–10000/mm^2. Posledično v perifernem vidu ne razlikujemo barv, ampak vidimo le različne jakosti bele svetlobe. Neposredno v fovei centralis ni paličnic, njihova gostota začne naraščati na robu fovee in je največja 20–30° lateralno od nje, kjer doseže ~200.000 paličnic na mm^2. Nato se začne gostota paličnic proti periferiji približno linearno zmanjševati, tako da 90° lateralno od fovee doseže ~50.000/mm^2. Ker so čepnice najgostejše v fovei centralis in njihove povezave z bipolarnimi celicami takšne, da se skoraj vsaka čepnica povezuje s svojo bipolarno celico, je ob dobri osvetlitvi ostrina vida največja ravno tukaj. Tako kot proti periferiji eksponentno upada gostota čepnic, upada tudi ostrina vida. Na drugi strani so paličnice povezane z občutljivostjo očesa, kar je izjemno pomembno ob slabši osvetlitvi. Občutljivost očesa je tako največja (100-odstotna) tam, kjer je največ paličnic, torej 20–30° lateralno od fovee in proti periferiji približno linearno upada (40 odstotkov maksimalne pri 90°). V fovei je občutljivost vida relativno majhna (~20 odstotkov maksimalne), saj so tam le čepnice. Ob tako šibki osvetlitvi, da čepnic ne vzdraži, s centralnim vidom ne vidimo, lahko pa vidimo s perifernim vidom. Šibko sijoče zvezde na nebu na primer ne vidimo, če zremo naravnost vanjo, če pogled usmerimo nekoliko mimo nje, pa jo vidimo s perifernim vidom.

Posamezna svetlobna čutnica je iz treh delov, zunanjega in notranjega segmenta, ki sta povezana s cilijem (angl. *cillium*), ter sinaptičnega terminala, kjer svetlobna čutnica komunicira z bipolarnimi in horizontalnimi celicami. Zunanji segmenti ležijo ob pigmentni plasti mrežnice in pri paličnicah vsebujejo diskaste membranske strukture (~ 1000/paličnico), pri čepnicah pa je plazmalema uvihana v obliki lamel. Na teh membranskih strukturah so nameščeni vidni pigmenti. V notranjem segmentu se nahaja jedro in večina celičnih organelov.

3 Optična pot in vidno polje

Po izstopu iz očes optična živca potujeta do optične kiazme, ki jo aksoni iz nazalnih (nosnih) delov obeh mrežnic prečkajo in se združijo z aksoni iz temporalnega (senčnega) dela mrežnice nasprotnega očesa v optično progo (optični traktus). Desna optična proga tako vsebuje informacije iz obeh desnih polovic mrežnic oziroma iz levega dela vidnega polja in obratno leva optična proga.

Vidno polje je prostorski kot v naši okolici, iz katerega oči sprejemajo svetlobo (če ne premikamo glave in pogleda). Vsako oko ima svoje vidno polje, a se v osrednjem delu prekrivata in razen na skrajni periferiji omogočata binokularni vid in globinsko predstavo predmetov. Velikost vidnega polja omejuje anatomska lega oči v lobanji. Običajno sega vidno polje vsakega očesa od kota ~60° na nosni strani do ~100° na senčni strani in od ~60° navzgor do ~75° navzdol od vodoravne linije. Fovea centralis zajema osrednje 3° vidnega polja. Slepa pega leži približno pri 15° v temporalnem delu vidnega polja (optični živec izhaja iz mrežnice nazalno). Slepi pegi obeh očes sta na različnih mestih vidnega polja. Pri binokularnem gledanju nista moteči, saj prostorski kot slepe pege levega očesa vidimo z desnim in obratno. Na področju obeh slepih peg je torej naš vid monokularen.

Določanje obsega vidnega polja nam omogoča perimetrija. Poznamo dve izvedbi metode. Pri kinetični perimetriji spreminjamo lokacijo dražljaja in ugotavljamo mo-

rebitna področja v vidnem polju, kjer s posameznim očesom ne vidimo (tako imenovane lezije). Lezije so lahko posledica poškodb mrežnice, vidnega živca, kiazme ali optične proge in so različno velike (od točkastih, preko odsotnosti vida na delu vidnega polja, do popolne slepote). Pri statični perimetriji spreminjamo jakost dražljaja na različnih delih vodnega polja in tako določamo občutljivost vida. Ta postopek nam omogoča ugotavljanje morebitne zgodnje izgube vida.

Meritve

Pri laboratorijskem delu dijakinje in dijaki izmerijo:

- širino vidnega polja levega in desnega očesa ter določijo binokularni del vidnega polja,
- lego slepe pege levega in desnega očesa,
- širino vidnega polja posameznega očasa za različne barve svetlobnega dražljaja (belo, rdeče, modro, zeleno).

Za izdelavo perimetra in meritve potrebujemo:

- trak belega kartona, širok 15 cm in dolg 120–130 cm,
- kotomer,
- dve lučki z belo diodo,
- lučko z rdečo, zeleno in modro diodo, ki jih lahko menjujemo (ali tri lučke, vsako s svojo barvo diode),
- temen prostor (čim temnejši, tem bolje),
- mizo in stol.

Navodilo za izdelavo preprostega perimetra

1. Trak upognemo v polkrog s polmerom približno 40 cm in ga pritrdimo na mizo tako, da rob mize predstavlja premer kroga. Na mizi označite središče kroga (tja bo testirana oseba naslonila brado).
2. Na sredini traku na višini 1 cm od zgornjega roba izrežemo 1 cm velik križec (zareze naj bodo tanke!) in na zunanjo stran križca pritrdimo lučko z belo diodo, tako da bo rahlo svetila skozi križec proti testirani osebi.
3. S kotomerom odmerimo in na traku označimo kote od 0° do 90° v vsako stran od križca, ki predstavlja 0°.

Navodilo za določanje širine vidnega polja

1. Prostor zatemnimo.
2. Testirana oseba naj sede na stol pred perimetrom in nasloni brado na označeno mesto v sredini polkroga. Oči in križec naj bodo v isti višini (po potrebi podložimo brado).
3. Pokrije naj si levo oko in z desnim očesom nepremično gleda v križec, za katerim prižgemo in pritrdimo lučko z belo diodo.
4. Drugo lučko z belo diodo počasi premikamo po zgornjem robu polkroga iz sredine (nad križcem) navzven proti nosu (nazalno), torej v levo glede na

testirano osebo. Testirana oseba naj ves čas gleda v križec in nas opozori, ko premikajoče se lučke ne vidi več. Takrat lučko začnemo počasi premikati nazaj proti sredini, dokler je oseba spet ne zagleda in odčitamo kot (kotne stopinje).

5. Premikanje lučke ponovimo še v drugi smeri iz sredine proti periferiji na senčno stran očesa (temporalno), torej v desno glede na testirano osebo, in zapišemo kot, do katerega oseba še vidi lučko (ta kot je pri nekaterih osebah lahko večji od 90°).
6. Ponovimo korake 3–5, s tem da si testirana oseba pokrije desno oko in opazuje z levim očesom. Smeri premikanja lučke ustrezno zamenjamo.
7. Preverimo, v katerem delu vidnega polja se vidni polji posameznih očes prekrivata. V tem delu vidnega polja je vid testirane osebe binokularen.

Navodilo za določanje slepe pege

1. Ponovimo korake 1–3 iz prve naloge (»Navodilo za določanje širine vidnega polja«).
2. Drugo lučko z belo diodo počasi premikamo po zgornjem robu polkroga iz sredine navzven proti sencam (temporalno). Testirana oseba naj ves čas gleda v križec in nas opozori, ko premikajoče se lučke ne vidi več (lučka za trenutek izgine nekje okoli kota 15°). Odčitamo kot.
3. Ponovimo korak 2 z levim očesom.

Navodilo za določanje širine vidnega polja za svetlobo različnih barv

1. Ponovimo korake 1–3 iz prve naloge (»Navodilo za določanje širine vidnega polja«).
2. Lučko z rdečo diodo počasi premikamo po zgornjem robu polkroga iz sredine (nad križcem) navzven proti nosu (nazalno). Testirana oseba naj ves čas gleda v križec in nas opozori, ko svetloba lučke ni več rdeča (svetlobo sicer vidi še dalje na periferiji, a ni rdeča!). Takrat začnemo lučko počasi premikati nazaj proti sredini, dokler oseba spet ne vidi rdeče barve in odčitamo kot.
3. Premikanje lučke ponovimo še v drugi smeri iz sredine proti periferiji na senčno stran očesa (temporalno) in zapišemo kot, do katerega oseba še vidi rdečo lučko.
4. Ponovimo koraka 2 in 3 za modro in zeleno barvo lučke.
5. Ponovimo korake 2–4 z levim očesom.

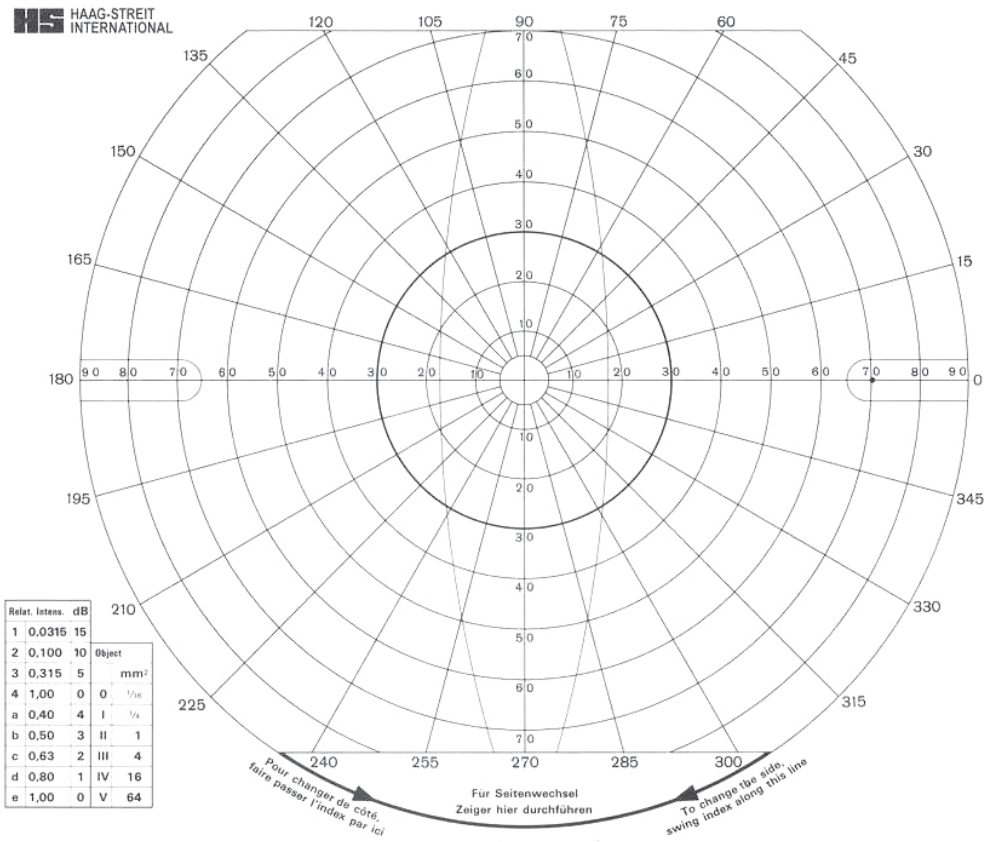
Delovni list 1

Vid – perimetrija

Ime in priimek: _____

Širina vidnega polja in lega slepe pege za obe očesi

1. Na vodoravni liniji označite širino vidnega polja za levo oko z eno barvo in za desno oko z drugo barvo. Kjer se barvi prekrivata, je vid binokularen.
2. Označite slepo pego levega in desnega očesa. Nad vsako slepo pego pripišite, kateremu očesu pripada.



Slika 1: Širina vidnega polja in lega slepe pege za obe očesi
(Vir: *http://www.litesourceinc.com/mmLITE/Images/09402413.jpg;* 13. 3. 2013)

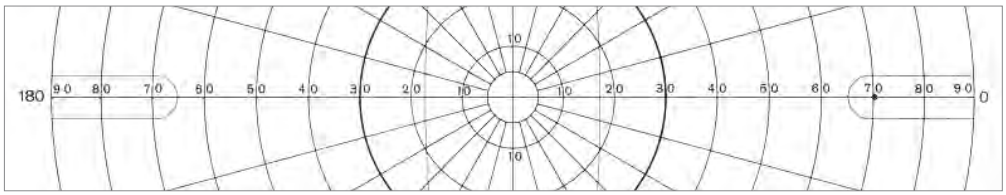
Vprašanja

1. Ali nam vid na skrajni periferiji, kjer je monokularen, omogoča globinsko gledanje? Kako je z globinskim vidom pri človeku, ki je slep na eno oko?
2. Kakšen je vid v slepi pegi – monokularen ali binokularen?
3. Zakaj nas pri normalnem gledanju z obema očesoma slepa pega ne moti?

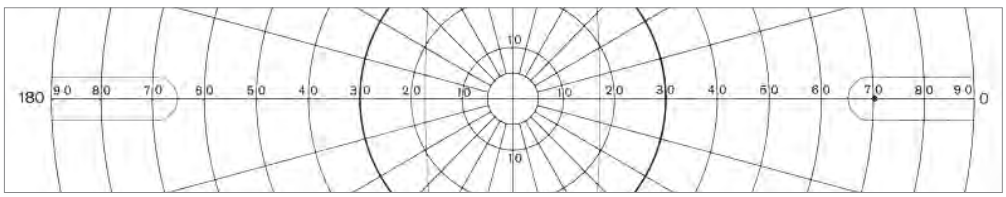
Širina vidnega polja za svetlobo različnih barv

1. Na vodoravni liniji prvega grafa označite širino vidnega polja levega očesa za rdečo, modro in zeleno barvo svetlobe (vsako s svojo barvico). Na spodnjem grafu naredite enako za desno oko.

LEVO



DESNO



Vprašanja

1. Primerjajte širino vidnega polja za belo svetlobo iz prvega dela vaje s širino vidnih polj za različne barve. Kaj opazite in zakaj se to zgodi?
2. Ali se širina vidnega polja za različne barve razlikuje? Kako bi si to razložili?
3. Ali planet Mars vidimo kot rdečo piko na nočnem nebu? Zakaj?

Preverjanje in vrednotenje znanja:

1. Ali nam vid na skrajni periferiji, kjer je monokularen, omogoča globinsko gledanje? Kako je z globinskim vidom pri človeku, ki je slep na eno oko?
   (Monokularen vid ne omogoča globinskega gledanja. Človek, ki je slep na eno oko, nima globinskega vida.)
2. Ali se širina vidnega polja za različne barve razlikuje? Kako bi si to razložili?
   (Širina vidnega polja je največja za belo svetlobo in bistveno manjša za barve. Razlog je razporeditev svetlobnih čutnic: na periferiji mrežnice je čepnic, s katerimi zaznavamo barve, izjemno malo, zato tam ne ločimo barv, vidimo pa svetlobo, ki jo zaznavamo s paličnicami.)

2.3.20 Koliko energije porabimo, kadar ne delamo nič in kadar telovadimo?

Dr. Lidija Križančić Bombek, Univerza v Mariboru,
Medicinska fakulteta, Inštitut za fiziologijo

Povzetek

V eksperimentalnem delu se dijaki seznanijo s porabo kisika ($\dot{V}_{O_2}$) in količino izločenega ogljikovega dioksida ($\dot{V}_{CO_2}$) na telesni ravni. S pomočjo senzorjev za kisik in CO_2 ter Vernierjevega vmesnika dijaki izmerijo koncentraciji kisika in CO_2 v izdihanem zraku. Dijaki določijo frekvenco dihanja s štetjem vdihov v eni minuti, globino dihanja pa s pomočjo vrečke, v katero izdihnejo, jo zaprto potopijo v vodo in izračunajo prostornino izpodrinjene tekočine. Iz produkta frekvence in globine dihanja dobijo pljučno ventilacijo, ki jo uporabijo za računanje količine vdihanega (ambientalni) in izdihanega (izmerjeni) kisika. Razlika med obema vrednostima je količina kisika, ki ga je telo porabilo.

Porabo kisika dijaki merijo v različnih eksperimentalnih razmerah (na tešče – oziroma vsaj tri ure po zadnjem hranjenju, takoj po jedi in med telesno dejavnostjo). Iz izmerjenih količin porabljenega kisika v časovni enoti izračunajo urno/dnevno porabo energije za določeno psihofizično stanje ali dejavnost. Pri tem upoštevajo količino energije, ki se sprosti iz hrane ob porabi enega litra kisika (t. i. povprečni kalorični ekvivalent). Dijaki spoznajo pojem stopnja bazalnega metabolizma (BMR) ter vplivom hranjenja in telesne dejavnosti na hitrost metabolizma (MR).

Meritve, ki jih opravijo med eksperimentalnim delom, dijaki vpisujejo v delovne liste na koncu vaje.

Čas za izvedbo dejavnosti

dve šolski uri: priprava aparature in zajemanje podatkov na tešče 15 minut, malica 15 minut, zajemanje podatkov po hranjenju 10 minut, zajemanje podatkov med telesno dejavnostjo 10 minut.

ena šolska ura: analiza meritev, izpolnjevanje delovnih listov, računanje porabe kisika in diskusija.

Povezava z učnim načrtom

- B – Raziskovanje in poskusi
- C – Zgradba in delovanje celice
- F – Zgradba in delovanje organizmov
    - F4 – Zgradba in delovanje človeka in drugih živali

Izbirni program

- I – Biološke osnove zdravega življenja

Maturitetni program

- N – Fiziologija človeka

Dijaki razumejo:

- da se hranilne snovi porabijo za pridobivanje energije za življenjske procese in za zgradnjo lastnih organskih snovi ter da se neporabljene hranilne snovi uskladiščijo (glikogen, maščoba);
- da človek energijo pridobiva s celičnim dihanjem, za kar sta potrebna dostava kisika do vsake celice in odstranjevanje ogljikovega dioksida;
- razliko med ventilacijo, izmenjavo plinov in celičnim dihanjem;
- razliko med maščobami in ogljikovimi hidrati kot viri energije za celice, in to povežejo s preskrbo tkiv s kisikom (povezava med intenzivnostjo telesne dejavnosti, prostornino porabljenega kisika in deležem oksidacije maščob in ogljikovih hidratov);
- da med povečano telesno dejavnostjo mišične celice potrebujejo večji dotok kisika in hranilnih snovi ter hitrejše odstranjevanje CO_2 (povečan srčni utrip in hitrost dihanja);
- da v primeru pomanjkanja kisika (kadar pretok krvi ne zadosti potrebe po kisiku) v mišičnih celicah poteka anaerobni metabolizem, in razumejo, da je v teh okoliščinah anaerobni metabolizem lahko prednost za njihovo delovanje;
- pomen telesne dejavnosti za delovanje organskih sistemov in celotnega organizma.

Medpredmetne povezave/predznanja drugih predmetov

- predznanje iz *kemije*, *biologije* in *fizike*: potek kemičnih reakcij; poznavanje biokemičnih procesov v celicah (glikoliza, Krebsov cikel, dihalna veriga, razgradnja maščobnih kislin); poznavanje energijskih enot in njihovih medsebojnih pretvorb (džul, kalorija), merjenje, delo in energija, notranja energija in toplota

Spletne povezave

1 *Kalorične vrednosti živil. Portal Zdravo hujšam – Mobilni fitnes. Dostopno na: http://zdravo-hujsam.si/index.php?option=com_content&task=view&id=39&Itemid=77 (13. 3. 2013).*

Literatura

1 *McArdle, W. D., Katch, F. I., Katch, V. L. (2010). Exercise physiology: nutrition, energy, and human performance. 7th ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins.*

2 *Stožer, A., Križančić Bombek, L., Dolenšek, J., Skelin, M. (2012). Izbrana poglavja iz fiziologije za študente medicine z navodili za vaje. Maribor: Univerza v Mariboru, Medicinska fakulteta.*

Učni list 1

Koliko energije porabimo, kadar ne delamo nič in kadar telovadimo?

Metabolizem (presnova) je skupek vseh kemičnih reakcij v telesu. Pri razgradnji organskih snovi (ogljikovih hidratov, maščob, beljakovin) kot končna produkta nastajata CO_2 in voda (v primeru aminokislin še različne dušikove, žveplove in v primeru maščob tudi fosforjeve spojine) ter se sproščata kemična in toplotna energija. Kemična energija (predvsem ATP) zagotavlja energijo za izločanje, mehansko delo (krčenje mišic, premikanje celic in organelov ...), aktivni transport snovi skozi membrano, gradnjo makromolekul ipd.

Celotni (dnevni) metabolizem sestavljajo:

- energija za preživetje (bazalni metabolizem; odvisen je od spola, starosti, velikosti telesa, telesne sestave, hormonov, zunanjih dejavnikov ...),
- energija za prebavo in presnovo hrane (presnovni metabolizem; odvisen je od sestave hrane, ki jo zaužijemo) ter
- energija za izvajanje dela oziroma telesne dejavnosti (delovni metabolizem; odvisen je od intenzivnosti dela).

Stopnja metabolizma (angl. *metabolic rate*, MR) predstavlja količino sproščene energije v časovni enoti (hitrost sproščanja toplote med kemijskimi reakcijami). Najpogosteje uporabljani enoti za energijo sta kalorija (cal) in džul (J). 1 cal ali 4,184 J predstavlja količino toplote, ki je potrebna, da se 1 gram vode segreje za 1 °C. Stopnjo metabolizma v fiziologiji običajno izražamo v kilokalorijah na časovno enoto ([kcal/24 h], [kcal/h]) ali kilodžulih na časovno enoto ([kJ/24 h], [kJ/h]). Povprečen odrasel človek porabi približno 2000 kcal na dan. To energijo dobi s hrano, ki jo zaužije. Poleg hrane pa seveda potrebuje tudi zadostno količino kisika, da lahko celice v telesu to hrano razgradijo in oksidirajo do končnih produktov ter pri tem iz nje sprostijo kemično energijo. Na podlagi porabljenega kisika lahko približno ocenimo, koliko hranil se je v telesu porabilo in koliko energije se je pri tem sprostilo.

Za oksidacijo različnih hranil porabimo različno količino kisika in dobimo različno količino energije. Količino sproščene energije na vsak liter kisika imenujemo kalorični ekvivalent. Za ogljikove hidrate (škrob) znaša 5,05 kcal/l O_2, za maščobe 4,70 kcal/l O_2 in za beljakovine (povprečno) 4,60 kcal/l O_2. Ker običajno uživamo mešano hrano, je povprečni kalorični ekvivalent = 4,825 kcal/l O_2.

Poleg porabe kisika je za vsako vrsto hranila značilna tudi količina nastalega CO_2. Količnik med volumnom izdihanega CO_2 in volumnom porabljenega O_2 imenujemo respiratorno izmenjevalno razmerje (RER). Na primer, pri razgradnji ogljikovih hidratov sta volumna izdihanega CO_2 in porabljenega O_2 v časovni enoti enaka, zato je RER = 1. Pri razgradnji maščob in beljakovin se porabi več O_2, kot nastane CO_2. ($RER_{Beljakovine} = 0,8$; $RER_{Maščobe} = 0,7$).

Gradivo za učitelje

Koliko energije porabimo, kadar ne delamo nič in kadar telovadimo?

1 Stopnja bazalnega metabolizma (BMR)

Stopnja bazalnega metabolizma (angl. *basal metabolic rate*, BMR) je minimalna energija, potrebna za preživetje. Navadno predstavlja 50–70 odstotkov dnevne porabe energije. BMR je manjši od dnevnega metabolizma predvsem zaradi manjšega tonusa skeletnega mišičja in manjše dejavnosti centralnega živčnega sistema (CŽS). Na BMR vplivajo: spol in starost (višji je v mladosti in pri moških), delovanje organov, velikost telesa (razmerje med površino in volumnom) in telesna sestava (odstotek skeletnega mišičja; nemastno (= esencialno) tkivo ima višji BMR), hormoni in drugi dejavniki, kot so stres, nosečnost, povišana telesna temperatura (bolezenska) in ekstremne zunanje temperature (vročina, mraz), ki zvišajo BMR, ter stradanje ali podhranjenost, ki znižata BMR.

BMR merimo v strogo določenih razmerah. Testirana oseba mora biti zdrava in spočita (vsaj osem ur spanja pred meritvijo), vsaj 12 ur pred meritvijo ne sme zaužiti hrane, alkohola, kofeina ali kaditi, biti mora telesno in duševno sproščena. Merimo v ležečem položaju v sobi s termonevtralno[18] temperaturo.

Vpliv hormonov na BMR

Tiroksin (T_4) in trijodtironin (T_3) zvišujeta BMR predvsem s povečanjem sinteze presnovno aktivnih encimov. Med drugim T_3 spodbudi sintezo Na^+/K^+-ATPaze, kar v splošnem poveča nastajanje ATP za različne celične procese. Čezmerne količine tiroidnih hormonov povečajo stopnjo metabolizma za 60–100 odstotkov. Ob njihovem pomanjkanju lahko stopnja metabolizma pade na polovico normalnega (npr. pri dolgotrajnem hujšanju). K razlikam v BMR med ljudmi v mrzlem in toplem podnebju prispeva prilagoditev ščitnice na manjše (toplo) ali večje (mrzlo) izločanje tiroksina.

Rastni hormon poveča stopnjo metabolizma za 15–20 odstotkov zaradi neposrednega povečanja privzemanja aminokislin v celice in sinteze beljakovin, povečane razgradnje trigliceridov in oksidacije maščobnih kislin ter pospešene glukoneogeneze ali zaradi posrednih učinkov inzulinu podobnega rastnega faktorja-1 (IGF-1), ki spodbuja sintezo beljakovin, gradnjo kosti in preprečuje mišično atrofijo.

Adrenalin poveča stopnjo metabolizma predvsem na račun aktivacije simpatičnega živčevja.

Testosteron zvišuje stopnjo metabolizma (10–15 odstotkov) tako, da vpliva na povečanje mišične mase.

Estrogen (estradiol) vpliva na nalaganje maščob v podkožje. Zato je delež maščevja pri ženskah večji kot pri moških in povprečna stopnja metabolizma primerno manjša.

2 Stopnja metabolizma v mirovanju (RMR)

Ko smo budni, a se ne gibamo, namesto BMR uporabimo stopnjo metabolizma v mirovanju (angl. *resting metabolic rate*, RMR), ki je v primerjavi z dnevnim metabo-

[18] *Temperatura prostora, pri kateri golega človeka v mirovanju ne zebe in mu ni vroče.*

lizmom manjši za 10–15 odstotkov predvsem zaradi manjšega mišičnega tonusa in dejavnosti CŽS.

3 Presnovni metabolizem

Stopnjo metabolizma zviša prebava (skupni izraz za absorpcijo in razgradnjo), kar imenujemo termogeni učinek hrane. Po zaužitju hrane, ki vsebuje večinoma ogljikove hidrate ali maščobe, se stopnja metabolizma poveča za približno 4 odstotke. Po zaužitju beljakovinsko bogate hrane začne metabolizem naraščati šele po 30 minutah in lahko naraste tudi do 30 odstotkov (specifično dinamično delovanje beljakovin). Učinek beljakovin na zvišanje metabolizma je posledica kompleksnih razgradnih poti dušikovih spojin.

4 Delovni metabolizem

Dejavnik, ki najbolj poveča stopnjo metabolizma, je telesna dejavnost. Hitrost porabe energije pri različnih dejavnostih imenujemo delovni metabolizem (MR_A) in je odvisen od lastnosti posameznika ter od vrste in intenzivnosti dela[19]. Delovni metabolizem ločimo na aerobni (običajno) in anaerobni metabolizem (ob velikih obremenitvah).

5 Merjenje BMR, RMR, MR_A

Najhitreje in najenostavneje ocenimo BMR (na dan) z različnimi teoretičnimi izračuni. Obstaja veliko različnih načinov računanja BMR, od katerih nekateri upoštevajo le telesno maso (npr. osnovni izračun: *BMR = telesna masa [kg] · 22 kcal/kg/dan*), drugi so natančnejši in upoštevajo tudi telesno višino, spol, starost (npr. Harris-Benedict, Mifflin-St Jeor) ali maso esencialnega tkiva (npr. Katch-McArdle).

Stopnjo metabolizma lahko merimo z neposredno ali posredno kalorimetrijo. Pri neposredni kalorimetriji uporabljamo toplotno in zračno izolirano komoro, okrog katere kroži voda. Ta se segreva zaradi toplote, ki jo oddaja testirana oseba v komori. Občutljivi senzorji merijo spremembo temperature vode, temperaturo zraka in koncentracije plinov v zraku, ki vstopa v komoro in jo zapušča. Iz podatkov izračunamo količino sproščene metabolne toplote. Ta metoda je zelo natančna, vendar zahtevna za izvedbo, draga in počasna, zato z njo ne moremo meriti hitrih sprememb v metabolizmu, na primer kratke intenzivne vadbe.

Ker je večina procesov v telesu aerobnih, lahko stopnjo metabolizma določimo na podlagi volumna izločenega CO_2 in porabljenega O_2 v časovni enoti s posredno kalorimetrijo. Normalno sta hitrost porabljanja O_2 ($\dot{V}_{O_2}$) in hitrost nastajanja CO_2 ($\dot{V}_{CO_2}$) v telesu enaka izmenjavi teh plinov v pljučih, razmerje med njima pa je odvisno od tipa hranila, ki se oksidira (glej podpoglavje »Kalorični ekvivalent, energetska vrednost hrane in respiratorni količnik«). Kadar procesi v telesu potekajo anaerobno ali ko prihaja do pretvarjanja ogljikovih hidratov v maščobe in nasprotno, posredna kalorimetrija ne kaže dejanske porabe.

[19] *spanje = 65 kcal/h; ležanje = 75 kcal/h; sedenje = 90 kcal/h; učenje = 110 kcal/h; stanje = 135 kcal/h; hoja (4 km/h) = 210 kcal/h; tek (9 km/h) = 640 kcal/h; tek (12 km/h) = 860 kcal/h; aerobika (zmerna) = 400 kcal/h; aerobika (intenzivna) = 600 kcal/h; kolesarjenje (16 km/h) = 440 kcal/h; kolesarjenje (21 km/h) = 640 kcal/h; plavanje (25 m/min) = 330 kcal/h; plavanje (50 m/min) = 690 kcal/h. Podatki so približni in se nanašajo na povprečno 68 kg težko osebo. Za vsakih 7 kg telesne teže več oziroma manj je poraba večja oziroma manjša za 10 %.*

6 Kalorični ekvivalent, energetska vrednost hrane in respiratorni količnik

Količina toplote, ki se sprosti med oksidacijo hrane, je sorazmerna z njeno energetsko vrednostjo in z volumnom kisika, ki je potreben za njeno oksidacijo. Na primer za oksidacijo 1 mola glukoze je potrebnih 134,4 litra kisika, pri čemer se sprosti 674 kcal energije[20]; torej je količina sproščene energije na liter porabljenega kisika za glukozo enaka 5,01 kcal/l. Količino sproščene energije na vsak liter kisika imenujemo kalorični ekvivalent. Za ogljikove hidrate (škrob) znaša 5,05 kcal/l O_2, za maščobe 4,70 kcal/l O_2 in za beljakovine (povprečno) 4,60 kcal/l O_2.

Hkrati s porabo O_2 lahko merimo tudi količino sproščenega CO_2. Razmerje med volumnom izdihanega CO_2 in volumnom privzetega O_2 v časovni enoti imenujemo respiratorno izmenjevalno razmerje (RER = $\dot{V}_{CO_2}/\dot{V}_{O_2}$; angl. *respiratory exchange ratio*). Gre za približek respiratornega količnika (angl. *respiratory quotient*, RQ), ki ga določamo na celični ravni.

Pri razgradnji ogljikovih hidratov sta volumna izdihanega CO_2 in privzetega O_2 v časovni enoti enaka, zato je RER = 1, v primerjavi z razgradnjo maščob[21] in beljakovin, kjer se porabi več O_2, kot nastane CO_2. Od sestave hrane je torej odvisno, koliko kisika bomo porabili za njeno popolno oksidacijo in kakšen bo RER ($RER_{Ogljikovi\ hidrati} = 1$; $RER_{Beljakovine} = 0{,}8$; $RER_{Maščobe} = 0{,}7$). Na podlagi izmerjenega RER lahko v mirovanju in pri lahki aerobni vadbi sklepamo, katera vrsta oziroma mešanica hrane se porablja.

Običajno človeško telo oksidira mešanico hranil, pri čemer je povprečni kalorični ekvivalent = 4,825 kcal/l O_2. Z merjenjem porabe O_2 v časovni enoti (običajno l/h) in upoštevanjem povprečnega kaloričnega ekvivalenta lahko ocenimo stopnjo metabolizma:

$$MR\ (stopnja\ metabolizma,\ [kcal/h]) = \dot{V}_{CO_2} \times 4{,}825\ kcal/l$$

V nekaterih okoliščinah na podlagi RER ne moremo določiti, katera hranila se oksidirajo, saj nastaja ali se izloča nesorazmerno več ogljikovega dioksida, kot se porablja kisika. Prvi primer je hiperventilacija, kjer hitrost ali globina dihanja presega potrebe metabolizma, zato je izločanje CO_2 večje kot njegovo nastajanje v celicah (prehodno stanje). Posledica je padec parcialnega pritiska CO_2 (pCO_2) v krvi in pojav respiratorne alkaloze. Hkrati ostane privzem O_2 skoraj nespremenjen, zato se RER poveča (lahko RER > 1). Naslednji primer je anaerobna vadba, med katero nastajajo laktat in H^+-ioni. Metabolno acidozo kompenzirajo bikarbonatni ioni (HCO_3^-) iz krvi, končna produkta sta CO_2 in H_2O. Povečano nastajanje CO_2 v primerjavi s porabo O_2 se odraža z zvišanjem RER (RER > 1). Dodatni vir napak pri posredni kalorimetriji so medsebojne pretvorbe ogljikovih hidratov in maščob. Tako lahko pri pretvarjanju ogljikovih hidratov v maščobe dobimo vrednosti RER višje od 1, medtem ko so vrednosti RER med stradanjem (pretvorba maščob v ogljikove hidrate) zelo nizke.

7 Meritve pri laboratorijskem delu

Pri laboratorijskem delu dijakinje in dijaki izmerijo porabo kisika in količino izločenega CO_2:

- v mirovanju na tešče,
- v mirovanju po hranjenju,
- med telesno dejavnostjo (počepi).

[20] *Oksidacija glukoze:* $C_6H_{12}O_6 + 6O_2 = 6CO_2 + 6H_2O + 674\ kcal\ (5{,}01\ kcal/l\ O_2)$; *6 mol* $O_2 \cdot 22{,}4\ l/mol = 134{,}4\ l\ O_2$ *pri standardnih pogojih*

[21] *Oksidacija palmitinske kisline:* $C_{16}H_{32}O_2 + 23\ O_2 \rightarrow 16\ CO_2 + 16\ H_2O$; $RQ = 16\ CO_2 / 23\ O_2 = 0{,}696$

Če imamo na voljo več kompletov Vernierjevih vmesnikov in senzorjev, oblikujemo skupine po 5–6 dijakov. Vajo lahko izvedemo tudi kot demonstracijo z eno testno osebo.

Za izvedbo meritev potrebujemo:

- Vernier LabQuest vmesnik (LABQ),
- senzor za kisik (O2-BTA),
- senzor za CO_2 (CO2-BTA),
- prozorno kuhinjsko vrečko (5 l), ki ji na zgornjo odprtino tesno prilepimo tulec iz kartona (približno: Ø 3 cm, dolžine 5 cm). Namesto vrečke in tulca lahko uporabimo Vernierjev spirometer (SPR-BTA) z vmesnikom za povezavo s sondo za kisik ali CO_2 (O2-SPR),
- plastenko, ki ji na dnu naredimo odprtino premera okoli 3 cm, na stranici pa 2 luknji, v kateri potisnemo senzorja za kisik in CO_2 (slika 1),
- vedro z vodo (10 l).

Slika 1: Plastenka s senzorjema za kisik in ogljikov dioksid (foto: Lidija Križančić Bombek)

Navodilo za delo z Vernierjevim vmesnikom in senzorji

1. Na analogni kanal 1 priključimo senzor za kisik.
2. Na analogni kanal 2 priključimo senzor za CO_2.
3. V meniju Rang nastavimo: *Rang:* 1 vzorec/s, *Interval:* 1 s/vzorec ter *Dolžina:* 600 s.
4. Pri obeh analognih kanalih izberemo enoto **%**.
5. Plastenko z luknjami držimo vodoravno in na njeni stranici vstavimo senzorja za kisik in CO_2.
6. Ko je testna oseba pripravljena, začnemo zajemati podatke.

7. Prvih 60 sekund snemamo koncentraciji plinov v prazni plastenki, nato začne testna oseba čim bolj *normalno* (ne globoko!!!) dihati skozi ustje plastenke tako, da vdihne skozi nos in izdihne skozi usta v plastenko. Tako diha približno 5 minut.
8. Po končanem zajemanju podatkov shranimo posnetek. Izmerimo še frekvenco dihanja in dihalni volumen.
9. Testna oseba naj poje malico. Izmerimo frekvenco dihanja in dihalni volumen. Nato ponovimo postopek merjenja porabe kisika in izločanja CO_2 (po hranjenju). Prvih 60 sekund snemamo koncentraciji plinov v prazni plastenki, nato začne testna oseba čim bolj *normalno* (ne globoko!!!) dihati skozi ustje plastenke približno 5 minut.
10. Po 5 minutah dihanja, začne testna oseba 2-minutno telesno dejavnost (npr. počepi), pri čemer še dalje vdihuje skozi nos in izdihuje skozi usta v plastenko.
11. Po končani telesni dejavnosti, naj testirana oseba sede, nadaljuje z dihanjem v plastenko in se počasi umiri.
12. Po končanem zajemanju podatkov shranimo posnetek.
13. Izmerimo še frekvenco dihanja in dihalni volumen med telesno dejavnostjo tako, da oseba ponovi serijo počepov (tokrat brez plastenke in senzorjev).

Navodilo za določanje frekvence dihanja in dihalnega volumna

Dijaki naredijo naslednja postopka po vsakem sklopu meritev (1. po merjenju porabe kisika na tešče, 2. po merjenju porabe kisika po hranjenju in 3. po telesni dejavnosti, pri čemer ponovijo telesno dejavnost in štejejo vdihe med njo ter izdihnejo 2–3 krat v vrečko).

1. Dijaki eno minuto opazujejo testno osebo ter štejejo njene vdihe (ali izdihe). Oseba naj diha čim bolj *normalno*. Tako približno določimo **frekvenco dihanja**. Izrazimo jo kot število vdihov na minuto (vdih/min).
2. Testna oseba naj 2–3 *normalne* izdihe izdiha skozi tulec v pripravljeno vrečko. Nos naj si obvezno zatisne! Vrečko nato tesno zapremo, pri čemer pazimo, da zrak ne uhaja iz nje, in jo potopimo v vedro z vodo. Iz dviga gladine vode izračunamo volumen zraka v vrečki in ga delimo s številom izdihov (2 ali 3). Tako dobimo **dihalni volumen**. Izrazimo ga kot volumen zraka na vdih (l/vdih).

Navodilo za računanje porabljene energije

Naslednje izračune naredimo za vsakega od treh sklopov meritev.

1. Najprej izračunamo **ventilacijo** (l/min), ki je produkt med frekvenco dihanja in dihalnim volumnom. To je količina *zraka*, ki ga vsako minuto vdihnemo in izdihnemo.
2. Sledi izračun *količine kisika v vdihanem zraku*. Iz krivulje, ki smo jo dobili s kisikovim senzorjem v prvi minuti zajemanja podatkov pred dihanjem v plastenko, odčitamo odstotek kisika v ambientalnem zraku. To je hkrati odstotek kisika v vdihanem zraku. Pomnožimo ga z ventilacijo in dobimo volumen vdihanega kisika v minuti (l O_2/min).
3. Podobno določimo *volumen kisika v izdihanem zraku*. Iz krivulje, dobljene s kisikovim senzorjem, odčitamo povprečen odstotek kisika v izdihanem zraku na intervalu med 2. in 5. minuto ter ga pomnožimo z ventilacijo. Dobimo volumen izdihanega kisika v minuti (l O_2/min).
4. Razlika med volumnoma vdihanega in izdihanega kisika v minuti je *količina kisika, ki se je porabil v telesu* ($\dot{V}_{O_2}$; l O_2/min).

5. Dobljeni $\dot{V}_{O_2}$ pomnožimo s povprečnim kaloričnim ekvivalentom, ki znaša 4,825 kcal/l O_2, in dobimo *količino energije, ki jo telo porabi v minuti*.
6. Za izračun metabolizma v mirovanju (približek BMR; kcal/dan) količino energije, ki jo telo porabi v minuti na tešče, pomnožimo s 60 minutami in 24 urami, da dobimo dnevno porabo energije.
7. Za izračun hitrosti metabolizma (MR_H) po hranjenju in med telesno dejavnostjo (MR_A) ravnamo kot zgoraj, le da je bolj smiselno vrednosti predstaviti kot porabo energije na uro, saj niti hranjenja niti telesne dejavnosti ne moremo izvajati nepretrgoma 24 ur.
8. Podobno, kot smo določili porabo kisika, lahko iz krivulje, dobljene s senzorjem za CO_2, določimo količino izdihanega CO_2 ($\dot{V}_{CO_2}$). Odčitamo delež CO_2 v izdihanem zraku na ustreznih intervalih na grafih (na tešče, po hranjenju, med telesno dejavnostjo). Za količino CO_2 v vdihanem zraku lahko poenostavljeno privzamemo, da je enaka nič.
9. Na koncu izračunamo respiratorno izmenjevalno razmerje (RER) kot količnik med $\dot{V}_{CO_2}$ in $\dot{V}_{O_2}$.

Ocena dnevne porabe energije

Dijaki s pomočjo literature in medmrežja poiščejo podatke o povprečni porabi energije za različne telesne dejavnosti in stanja (npr. tek, kolesarjenje, plavanje, sedenje, učenje, spanje, itd.). Ocenijo, koliko časa v dnevu (24 ur) izvajajo različne telesne dejavnosti, koliko časa spijo itd., in izračunajo, koliko energije porabijo za posamezno dejavnost. Prav tako ocenijo dnevno porabo energije. Poiščejo tudi podatke o vsebnosti energije v 100 gramih različnih živil (npr. čokolada, kruh, sadni sok, piškoti, sadje, zelenjava, meso, itd.) in jih primerjajo s svojo dnevno porabo.

Napotek za učitelje: preglednice o povprečni porabi energije pri različnih dejavnostih so pogosto podane za moške (175 cm, 70–80 kg), poraba pri lažjih in težjih osebah se zato razlikuje od podanih vrednosti. Prav tako je poraba energije močno odvisna od intenzivnosti posamezne dejavnosti in je nekoliko manjša za ženske kot za moške enake starosti, telesne mase in višine.

Delovni list 1

Metabolizem

Ime in priimek _____

Tel. višina (cm) _____ Tel. masa (kg) _____ Starost (leta) _____

BMI (kg/m^2) _____ Spol: M / Ž

A. Stopnja bazalnega metabolizma (bmr)

1. Po osnovnem izračunu določi **svoj teoretični** BMR.

   a) **Osnovni izračun (BMR_0) =** *telesna masa [kg] · 22 kcal/kg/dan*

   BMR_0 = _____ kcal/dan ⇒ _____ kcal/h ⇒ _____

2. Izračunaj stopnjo bazalnega metabolizma **(BMR_I)** na osnovi izmerjene **porabe kisika ($\dot{V}_{O_2}$)**. Upoštevaj, da je povprečni kalorični ekvivalent enak 4,825 kcal/l O_2.

   BMR_1 = _____ kcal/dan ⇒ _____ kcal/h ⇒ _____

3. V preglednico vnesi za vsakega dijaka v skupini izračunane in izmerjene vrednosti BMR ter izmerjene vrednosti $\dot{V}_{O_2}$ in RER v bazalnih pogojih.

Ime	**Spol** (M/Ž)	**BMR_0** (kcal/dan)	**BMR_I** (kcal/dan)	**$\dot{V}_{O_2}$** (L/min)	**RER** (/)
1.					
2.					
3.					
4.					
5.					
6.					
7.					
8.					
Povprečje (spol)	**Ž** **M**				

4. Navedi vzroke za razlike v BMR med dijaki v skupini.

_____

B. Vpliv (pre)hrane na stopnjo metabolizma (mr_h)

5. V preglednico vnesi izmerjene vrednosti $\dot{V}_{O_2}$ in RER po zaužiti hrani ($\dot{V}_{O_2H}$ in RER_H). Na podlagi $\dot{V}_{O_2H}$ izračunaj stopnjo metabolizma po zaužiti hrani (MR_H).

Ime	**Spol** (M/Ž)	**Prehrana***	$\dot{V}_{O_2H}$ (L/min)	**RER_H** (/)	**MR_H** (kcal/h)	**RER_{HV}** (/)
1.						
2.						
3.						
4.						

*navedi sestavo na vaji zaužitega obroka hrane (beljakovine, ogljikovi hidrati, maščobe oz. mešana)

6. Ali opaziš razlike med BMR_I (kcal/h) in MRH pri istem dijaku? Razloži.

C. Telesna dejavnost

7. V preglednico vnesi izmerjene vrednosti $\dot{V}_{O_2}$ in RER v mirovanju (po zaužiti hrani) ($\dot{V}_{O_2M}$ in RER_M) ter med telesno dejavnostjo ($\dot{V}_{O_2A1}$ in RER_{A1}). Na podlagi izmerjenih $\dot{V}_{O_2}$ **in povprečnega kaloričnega ekvivalenta** izračunaj MR v mirovanju (**MR_M**) in med telesno dejavnostjo (**MR_A**).

Ime	**Spol** (M/Ž)	$\dot{V}_{O_2M}$ (L/min)	**RER_M** (/)	**MR_M** (kcal/h)	$\dot{V}_{O_2A}$ (L/min)	**RER_A** (/)	**MR_A*** (kcal/h)
1.							
2.							

*Predpostavka, da bi lahko takšno intenzivnost telesne dejavnosti izvajal celo uro.

8. Kaj se med telesno dejavnostjo dogaja z $\dot{V}_{O_2}$, RER in MR? Razloži.

9. Kako in zakaj bi se spremenili $\dot{V}_{O_2}$, RER in MR pri anaerobni vadbi v primerjavi z aerobno vadbo? Ali bi bil MR pri anaerobni vadbi, izračunan iz $\dot{V}_{O_2}$, natančen in zakaj?

D. Dnevna poraba energije

10. Ocenite vašo dnevno porabo energije (glede na vaše običajne dnevne dejavnosti).

	Povprečna poraba energije* (kcal/h)	**Trajanje** (h)	**Dejanska poraba energije** (kcal)
spanje			
učenje			
sedenje			
hoja			
vadba			
SKUPAJ		**24 h**	**kcal/dan**

* Podatki, ki jih najdemo v tabelah, običajno približno držijo za moške, težke 70–80 kg in visoke 175–180 cm.

Preverjanje in vrednotenje znanja:

1. Kaj je stopnja bazalnega metabolizma (BMR) in od česa je odvisna?
(BMR je minimalna količina energije, ki jo telo potrebuje, da preživi. Odvisna je od spola, starosti, velikosti in mase telesa, telesne sestave, hormonov, zunanjih dejavnikov …)

2. Kako lahko izračunamo količino porabljenega kisika, če poznamo frekvenci in globino dihanja osebe, ter delež kisika v izdihanem zraku?
(Najprej izračunamo ventilacijo pljuč kot produkt med frekvenco in globino dihanja v 1 minuti. Dobljeno ventilacijo (= količina zraka, ki se pretoči v pljuča in iz njih) pomnožimo z 0,21 – kolikor je delež kisika v ambientalnem zraku, da dobimo količino kisika, ki ga vdihnemo. Nato ventilacijo pomnožimo z deležem kisika v izdihanem zraku, da dobimo količino izdihanega kisika. Razlika med količino vdihanega in izdihanega kisika je količina porabljenega kisika v 1 minuti.)

2.4 Ekologija

2.4.1 Raziskovanje ekosistema potok in biološka ocena kakovosti tekočih voda

Katja Holnthaner Zorec, II. gimnazija Maribor

Povzetek

Terensko delo je namenjeno spoznavanju in merjenju neživih dejavnikov potoka, proučevanju njegove življenjske združbe, prilagoditev organizmov na nežive dejavnike in sklepanju o vplivu človeka na ekosistem. Predstavljena je tudi poenostavljena biološka metoda določanja kakovosti tekočih voda. Priložena so navodila za vajo s popisnim listom in z enostavnim slikovnim ključem za prepoznavanje najbolj tipičnih nevretenčarjev tekočih voda.

Čas izvedbe

tri do štiri ure (odvisno od oddaljenosti vzorčnih mest)

Povezava z biološkimi koncepti in cilji iz učnega načrta za biologijo:

- B – Raziskovanje in poskusi (B1-1, B1-2, B1-5, B1-6, B1-8),
- G – Ekologija (G2-2, G2-3, G2-3, G2-4, G2-5, G2-6, G4-3, G4-4)

Medpredmetne povezave

- *geografija*: lastnosti vodne struge

Uvodna vsebinska izhodišča

Za uspešno izvedbo vaje morajo dijaki poznati osnove pojme iz ekologije in značilnosti osnovnih sistematskih skupin živali. Koristi tudi poznavanje uporabe različnih merilnih naprav, na primer senzorja za kisik. Priporočam delitev razreda v dve skupini, nato se na terenu razdelijo še v manjše podskupine.

Predstavitev izvedbe

Izberemo primeren manjši potok v bližini šole in na njegovem toku določimo tri vzorčna mesta: eno v bližini izvira, kjer je voda čista in hitro tekoča, drugi dve vzorčni mesti pa v primerni oddaljenosti v nadaljevanju toka. Najbolje je, če najdemo lokacijo, kjer na kakovost vode s svojim delovanjem vpliva človek (bližina naselja, kmetijskih površin ...), morda tudi del struge, ki je regulirana (komunalno urejena). Pred samim terenskim delom si ogledamo potok in za vzorčenje izberemo najlažje dostopna mesta, kjer struga ni pregloboka.

Dijake opozorimo, da naj bodo primerno oblečeni in obuti, uporabijo naj tudi sredstvo proti klopom. Nujno je, da ima nekaj dijakov s seboj tudi škornje. Na teren se ne odpravimo po večjih nalivih, ko je voda narasla. Če je voda onesnažena, je obvezna uporaba zaščitnih rokavic.

V prilogi je predstavljen je primer popisnega lista, ki si ga lahko prilagodimo glede na cilje, ki smo si jih zastavili. Prav tako je v prilogi predstavljen slikovni določevalni ključ, ki ga lahko dopolnimo z živalmi, tipičnimi za izbrani potok. Zato vzorčna mesta vnaprej preiščemo sami, da vidimo, s katerimi živalskimi skupinami imamo opravka.

Material

- termometer,
- štoparica,
- meter,
- reagenčna steklenička,
- pH-indikatorski lističi,
- oksimeter ali LabQuest s senzorjem za raztopljeni kisik,
- zemljevid območja,
- ključi za določanje vodnih nevretenčarjev,
- pincete,
- fotografske banjice (bele),
- ročna lupa,
- gumijaste rokavice,
- škornji,
- mrežica za nabiranje organizmov v tekočih vodah,
- plastične petrijevke,
- plastične žlice.

Metoda dela

Dijaki izpolnijo prvi del popisnega lista:

- *Ime potoka, kraj, nadmorska višina, dolžina potoka, oddaljenost od izvira:* podatke dijaki odčitajo iz ustreznega zemljevida.
- *Globina potoka, širina struge:* z metrom izmerijo na mestu, kjer bo odvzet vzorec. Če je struga na mestu vzorčenja zelo raznolika, izmerijo na več mestih in podajo povprečje.
- *Poraslost bregov:* drevje, grmovje**,** zelnate rastline. Opišejo z izrazi: bregovi bujno porasli, srednje porasli, goli. Lahko navedejo prevladujoče rastlinske vrste. Navedejo, ali so bregovi regulirani (umetno urejeni, obloženi s ploščami, kamni).
- *Poraslost dna:* če je dno poraslo z rastlinami (alge in druge vodne rastline), navedejo, kolikšen odstotek (%) dna je poraščen. Navedejo lahko prevladujoče rastlinske vrste.
- *Tip substrata:* skale, kamni prodniki, pesek, glina, delno razgrajen detrit, nerazgrajen detrit, mulj, regulirana struga (dno, obloženo s ploščami, kamni).
- *Vodni objekti:* mostovi, jez ...
- *Možni viri onesnaženja:* naštejejo možne onesnaževalce in njihovo oddaljenost od mesta vzorčenj (industrijski obrati, iztok komunalnih odplak, kmetijske površine ...).

- *Hitrost vodnega toka:* meritev izvedejo na mestu odvzema vzorca. S štoparico izmerijo čas, ki ga listek ali paličica potrebuje, da prepotuje 1 m. Preračunajo v m/s. Izvedejo več meritev in izračunajo povprečje.
- *Temperatura vode:* na vsakem odvzemnem mestu izmerijo temperaturo vsaj 3-krat (na različnih višinah oz. globinah). V preglednico vnesejo povprečno temperaturo.
- *Vrednost pH:* v čašo zajamejo vzorec vode, izmerijo pH z indikatorskimi lističi.
- *Ocena barve (Bellova lestvica organoleptičnih lastnosti vode):*

  Barvo vode ocenjujemo tako, da gledamo v čašo z vzorcem, ki je postavljen na belo podlago. Barva je lahko:
  - prozorna,
  - komaj opazno rumena,
  - rumena,
  - rumeno-rjava,
  - rjava,
  - rumeno-zelena,
  - zelenkasta,
  - zelena,
  - sivo-rumena,
  - sivo-rdeča.
- *Ocena bistrosti*

  Bistrost vode ocenjujemo tako, da gledamo v čašo z vzorcem, ki je postavljen na belo podlago. Motnost vode je posledica optičnega delovanja koloidnih delcev, na katerih se svetloba razprši. Ocena bistrosti vode je lahko:
  - bistra,
  - komaj opazna motnost,
  - motna,
  - vidni trdni delci.
- *Ocena vonja*

  Oceno vonja vode napravimo tako, da vodo zapremo v manjšo (čisto in popolnoma brez vonja) reagenčno stekleničko, dobro pretresemo in povohamo. Večina anorganskih in organskih snovi, ki so raztopljene v vodi, povzroča določen vonj, v nadaljevanju je prikazana Bellova razvrstitev:
  - ni vonja (vonja ne zaznavamo),
  - zelo slab, nedefiniran vonj (vonj zazna le zelo občutljiv posameznik),
  - slab (vonj zaznamo le, če nas opozorijo),
  - zaznaven (vonj rahlo zaznamo),
  - značilen (vonj je dovolj izrazit, da pritegne našo pozornost),
  - močan (močan vonj, ki nas opozarja, da je v vodi nekaj v večji množini).

Vzorčenje: vodna mrežica, metoda brcanja (»kicking« metoda)

Vodno mrežico z daljšo stranico naslonimo na dno tako, da je odprtina obrnjena proti toku. Pred mrežo z nogo brcamo v podlago, lahko tudi z roko obračamo kamenje in obrast ter s tem z dna dvigamo živali, ki jih vodni tok odnese v mrežo.

Mrežo izpraznimo v banjico, napolnjeno z vodo. Vzorčimo v določeni smeri od enega do drugega brega in pri izbiri smeri pazimo, da zajamemo vsa mesta, ki se razlikujejo glede na strukturo dna, poraščenost in hitrost vodnega toka. Priporoča se večkratni odvzem vzorca – vzorčimo tolikokrat, da v novem vzorcu ne odkrijemo več novih živalskih skupin. Predvsem pri vzorčenju na muljastem dnu dijake opozorimo, da ne zajamejo preveč dodatnega materiala (mulja, razpadajočih listov...), ki močno oteži iskanje živali v banjici. Če je voda v banjici vseeno preveč umazana in kalna, je potrebno dodatno izpiranje vzorca.

Obdelava podatkov

- Na začetku je treba počakati, da se težji delci usedejo in da se živali umirijo ter se začnejo značilno premikati (vrtinčarji lazijo po dnu kadice, enodnevnice značilno plavajo ...). Tudi če je vzorec zelo čist in kadica bele barve, je v kadici težko opaziti značilnosti zgradbe živali, pomembne za razlikovanje posameznih skupin (trahealne škrge, izrastki na zadku ...). Zelo uporaben se je izkazal način, da živali s plastičnimi žlicami zajamemo in damo v plastične petrijevke, napolnjene z vodo. Tako lahko dijaki žival približajo očem, jo bolj natančno opazujejo (tudi z uporabo lupe) in uspešno določijo.
- Dijaki naj najprej ugotovijo, v katero širšo skupino spada organizem, sledi natančnejše določanje (primer: žuželke, ličinke enodnevnic, vrbnic, maloščetinci ...) in nato v okviru vsake širše skupine ugotavljajo, koliko različnih podskupin je prisotnih (primer: štiri različne skupine vrbnic, dve različni vrsti vrtinčarjev ...). Ocenijo tudi število posameznih živali.
- Dijakom pomagamo pri prepoznavanju družin *Baetidae* in *Caenidae*, saj živali teh dveh skupin ne spadajo med indikatorske vrste.
- V preglednico 1 dijaki vnesejo število posameznih živalskih skupin (taksonov). Vse taksone nato seštejejo in v preglednici 2 odčitajo vrednost Trent biotskega indeksa (TBI), pri čemer upoštevajo število taksonov in indikatorsko skupino (ključni takson), najvišje v tabeli. Primer: če imamo v vzorcu mladoletnice, enodnevnic in vrbnic pa ne, bo TBI ob sedemnajstih najdenih taksonih 8. Na koncu v tabeli 3 odčitajo oceno onesnaženosti vode glede na dobljeni indeks.

Prednost predstavljene metode je, da od dijakov ne zahteva določanja živali do vrst, ampak do širših sistematskih skupin, kar je mogoče izvesti na terenu, z majhnim predznanjem, brez natančnih ključev in zahtevne opreme. Delamo lahko z živimi živalmi, ki jih po določanju izpustimo nazaj v naravno okolje. Metoda ne omogoča velike natančnosti, vseeno dijakom omogoči, da spoznajo kvantitativno metodo za proučevanje sestave življenjskih združb in ugotavljanje onesnaženosti vode na tej podlagi.

V pogovoru dijake opozorimo, da so dobljeni rezultati le groba ocena onesnaženosti, predlagajo naj možne izboljšave. Kljub nenatančnosti metoda pokaže razlike med različnimi vzorčnimi mesti, še posebej če so dobro izbrana (zgornji tok potoka s čisto vodo, spodnji tok potoka blizu kmetijskih površin, naselja).

Večjo natančnost bi dosegli, če bi vzorec odnesli v laboratorij in živali določali do ožjih sistematskih skupin s pomočjo stereomikroskopa in z uporabo natančnejših ključev za določanje. To zahteva dodaten čas (vsaj dve šolski uri). Ker večina v laboratorij prinesenih živali pogine, je smiselnost te izboljšave vprašljiva.

Prednost predstavljene metode je, da nismo vezani na vegetacijsko dobo, saj delamo z živalmi, ki so v potoku vse leto. Kljub temu priporočam delo v pomladnih mesecih ali zgodaj jeseni, saj je lahko zaradi nizkih temperatur zraka in vode delo oteženo. Terensko delo lahko razširimo v projekt, opravimo vzorčenje v vseh letnih časih in rezultate primerjamo. To nam da popolnejšo sliko o dejanskem stanju izbranega potoka.

Terensko delo nam omogoča, da se dijaki na konkretnem primeru seznanijo z pojmom biotske raznovrstnosti, razmišljajo o stabilnosti ekosistemov, sklepajo o vlogah opazovanih organizmov v ekosistemu in povezavami med njimi. Ena izmed nalog na delovnem listu je tudi oblikovanje prehranjevalnega spleta. V nadaljevanju je predstavljena prehrana nekaterih značilnih živali potoka, ki jih običajno srečujemo pri delu.

Kačji pastirji (ličinke): majhne živali, lovijo z posebno oblikovanimi čeljustmi – lovilno krinko.
Mladoletnice (ličinke): alge, rastline, detrit.
Enodnevnice (ličinke): strgajo alge iz kamnov in višjih rastlin, detrit.
Vrbnice (ličinke): detrit.
Pijavke: manjši nevretenčarji (plenilske), kri različnih živali (parazitske).
Trzače (ličinke): alge.
Postranice: gnijoči rastlinski deli.
Vrtinčarji: drobni nevretenčarji, ribje ikre, mrhovina.
Vodni deževniki: organski ostanki v blatnem dnu.
Vodni ščipalci: majhne živali.

Gradiva za dijakinje/dijake

Glej prilogo: navodila za terensko delo, popisni list in slikovni ključ za določanje najznačilnejših skupin vodnih nevretenčarjev.

Refleksija

- Terenske vaje omogočajo delo z živimi organizmi in stik z naravnim okoljem, česar v učilnici ne moremo zagotoviti. Dijake spodbuja k opazovanju naravnega okolja, razvijanju odnosa do živih bitij in razmišljanju o vplivu človeka na ekosisteme.
- Vaja da številna izhodišča za razpravo o samoočiščevalni sposobnosti tekočih voda, vplivu človeka na biotske in abiotske dejavnike ekosistema, dekompoziciji, kroženju snovi in pretoku energije, evolucijskih prilagoditvah organizmov na abiotske dejavnike, ontogenetskem razvoju žužek ...

Priporočena literatura in viri

1 *Batič, F. et al. (1998). Biološko laboratorijsko, eksperimentalno in terensko delo. Ljubljana: DZS.*

2 *Devetak, D. et al. (1998). Izbrane zoološke vsebine v izobraževanju: terensko delo. Študijsko gradivo. Maribor: Pedagoška fakulteta, Univerza v Mariboru.*

3 *Engelhardt, W. (2008). Was lebt in Tümpel, Bach in Weiher? Pflanzen und tiere unsere Gewässer. Stuttgart: Kosmos Verlag.*

4 *Ludwig, H. W. (1989). Tiere unsere Gewässer. München: BLV Verlagsgesellschaft.*

5 *Garms, H. et al. (1981). Živalstvo Evrope. Priročnik za določanje živalskih vrst. Ljubljana: Mladinska knjiga.*

6 *Krušnik, C. (1994). Živi svet voda. Seminarsko gradivo. Ljubljana: Zavod RS za šolstvo.*

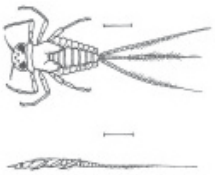
7 *Tarman, K. (1992). Osnove ekologije in ekologija živali. Ljubljana: DZS.*

8 *Urbanič, G., Toman, M. J. (2003). Varstvo celinskih voda. Ljubljana: Študentska založba.*

Navodila za terensko delo (za dijake)

Raziskovanje ekosistema potok in biološka ocena kakovosti tekočih voda

Potoki so manjša tekoča vodna telesa, običajno niso širši od 3 metrov. Njihovo dno je kamnito, prodnato ali zamuljeno. Planktona v vodi skoraj ni. V tekočih vodah delimo življenjsko združbo v plavajoče živali in živali dna. Predstavniki prve skupine so predvsem različne vrste rib, ki živijo v zgornjih in srednjih plasteh vode. Združba živali dna pa je bolj pestra. Najdemo gliste, vrtinčarje, polže, vodne deževnike, postranice, ličinke različnih vrst žuželk ... Navadno te živali niso dobri plavalci, zarivajo se v zgornje plasti dna, živijo na njem in jih voda odnese, čim zapustijo varne oprijeme in skrivališča na dnu. Številne živali so prilagojene na vodni tok: iščejo zavetje pod kamni (vrtinčarji, ličinke žuželk ...), se zarivajo v podlago (školjke, polži, tubifeksi, ličinke trzač ...), se prilagodijo z oblikovanostjo telesa (ličinke enodnevnic, vrbnic ...), imajo priseske, krempeljce (ličinke muhe kijevke, vrbnic ...) ali si obtežijo telo (ličinke mladoletnic) (slika 1, 2).



Slika 1: Ličinke enodnevnic: sploščeno hidrodinamično telo, ki ga tok pritiska ob podlago (avtorica slik Katja Holnthaner Zorec).

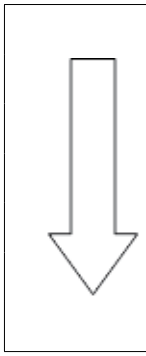
Slika 2: Priseski ličinke muhe kijevke in obtežitev telesa pri ličinkah mladoletnic.

Število in vrstna sestava organizmov se vzdolž struge hitro spreminjata, ker se spreminja temperatura vode, količina raztopljenega kisika, hitrost vodnega toka, onesnaženost in drugi dejavniki. Vsebnost kisika v vodi je odvisna od temperature, stopnje prezračevanja vode v strugi (kamni, slapovi) in tudi od razgradnje organskih ostankov, ki vstopajo v potok naravno (na primer odpadlo listje ...), lahko jih prinašajo komunalne odplake ali pa se izpirajo iz bližnjih obdelovalnih površin. Razgradnja teh organskih snovi zmanjšuje koncentracijo kisika.

Biološka ocena onesnaženosti tekočih voda na podlagi *Trent biotskega indeksa* (TBI) je zasnovana na različni občutljivosti vodnih nevretenčarjev na onesnaževanje (predvsem z organskimi snovmi) in s tem povezanim pomanjkanjem kisika. Živali se odzivajo na kakovost vode in usedline. Metoda temelji na analizi prisotnosti indikatorskih skupin nevretenčarjev. Primerna je zato, ker so organizmi, ki jih obravnavamo, vezani na substrat in niso podvrženi stalnim migracijam. Tudi vzorčenje in določanje teh organizmov je dokaj enostavno, saj organizmov ni potrebno določiti do vrste. Prav tako so njihovi življenjski cikli večinoma daljši od enega leta in so v vodi v vseh letnih časih. Trent biotski indeks temelji na dveh predpostavkah:

- večje je število vrst živali v vodi, manj je voda onesnažena,
- z naraščajočo onesnaženostjo živalske skupine izginjajo v značilnem vrstnem redu.

Preglednica 1: Odpornost različnih skupin vodnih nevretenčarjev proti organskemu onesnaženju; vrbnice so najmanj, tubifeksi pa najodpornejši.



vrbnice
enodnevnice
mladoletnice
postranice
vodni oslički
trzače
tubifeksi

Zbiranje in obdelava podatkov

1. Na vzorčnem mestu opravimo vsa potrebna opazovanja in meritve, podatke zapišemo v popisni list.
2. Z vodno mrežico naberemo čim več vodnih organizmov in jih zberemo v banjice. Neznane organizme s plastično žlico preložimo v plastične petrijevke, napolnjene z vodo. S pomočjo lupe in določevalnih ključev določimo, v katero skupino spadajo nabrane živali. Najprej določimo širšo sistematsko skupino (na primer enodnevnice), nato ugotovimo, koliko različnih vrst (taksonov) je v okviru te skupine v vzorcu (na primer koliko različnih enodnevnic).
3. V preglednico 1 vnesemo število posameznih živalskih skupin (taksonov). Števila vseh taksonov nato seštejemo in v preglednici 2 odčitamo vrednost Trent biotskega indeksa (TBI), pri čemer upoštevamo število taksonov (stolpec) in indikatorsko skupino oziroma ključni takson najvišje v preglednici (vrstica). Primer: če imamo v vzorcu mladoletnice, enodnevnic in vrbnic pa ne, bo TBI ob sedemnajstih najdenih taksonih 8. Na koncu v preglednici 3 odčitamo oceno onesnaženosti vode glede na naš dobljeni indeks.
4. Iz nabranih organizmov sestavimo preprost prehranjevalni splet.

Preglednica 2: Indikatorske skupine vodnih nevretenčarjev

Indikatorske živalske skupine	**Število taksonov**		
	Vzorčno mesto 1	**Vzorčno mesto 2**	**Vzorčno mesto 3**
Vrtinčarji (*Turbellaria*)			
Maloščetinci (*Oligochaeta*)			
Pijavke (*Hirudinea*)			
Mehkužci (*Mollusca*)			
Raki (*Crustacea*)			
Vrbnice (*Plecoptera*) – ličinke			
Enodnevnice (*Ephemeroptera*) – ličinke			
Blatnice (*Megaloptera*) – ličinke			

Indikatorske živalske skupine	Število taksonov		
	Vzorčno mesto 1	Vzorčno mesto 2	Vzorčno mesto 3
Hrošči (*Coleoptera*)			
Vodne pršice (*Hydrocarina*)			
Mladoletnice (*Trichoptera*) – ličinke			
Trzače (*Chironomidae*) – ličinke			
Muha kijevke (*Simulium*) – ličinke			
Vsota vseh taksonov			

Preglednica 3: Določevanje Trent biotskega indeksa na osnovi ključnih taksonov

Število vseh taksonov / Ključni taksoni	Biotski indeks									
	0-1	2-5	6-10	11-15	16-20	21-25	26-30	31-35	36-40	41-45
ličinke vrbnic (*Plecoptera*)	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
ličinke enodnevnic (*Ephemeroptera*)*1	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
ličinke mladoletnic (*Trichoptera*) *2	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
potočna postranica (*Gammarus*)	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
vodni osliček (*Asellus*)	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
*Tubificida*e in/ali rdeči *Chironomidae*	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
nobena izmed zgornjih živali	0	1	2	-	-	-	-	-	-	-

*1 brez družin *Baetidae* in *Caenidae* *2 in družini *Baetidae* in *Caenidae*

Preglednica 4: Ocena onesnaženosti glede na vrednost Trent biotskega indeksa (TBI)

Razredi	Vrednost TBI	Ocena onesnaženosti
1. razred	10–15	neonesnažen vodotok
2.razred	8–9	opazni nekateri vplivi onesnaženja
3.razred	6–7	onesnažen vodotok
4.razred	4–5	zelo onesnažen vodotok
5.razred	1–3	izredno onesnažen vodotok

Vprašanja za razmislek

1. Kakšni problemi se pojavijo pri meritvah neživih dejavnikov potoka, kot so na primer hitrost vodnega toka, globina struge, tip substrata?

2. Zakaj ni primerno, da vzorčimo takoj po močnem deževju?
3. Na treh primerih nabranih živali predstavi, kako so prilagojene na hitrost vodnega toka.
4. Primerjaj potok in ribnik glede na tri poljubno izbrane nežive dejavnike.
5. Katere primarne proizvajalce si našel v potoku in kakšna je njihova vloga v ekosistemu. Kdo opravlja njihovo vlogo, če jih ni?
6. V potoku skorajda ni planktonskih organizmov. Razloži, zakaj!
7. Razloži, kaj so to bioindikatorji. Naštej nekaj primerov!
8. Opiši ontogenetski razvoj enodnevnic.
9. Utemelji, zakaj višje vrednosti TBI običajno pomenijo tudi stabilnejšo združbo.
10. Kateri izmed potokov, ki so predstavljeni v spodnji preglednici, ima višjo biotsko raznolikost in v katerem je združba stabilnejša? Utemelji svoj odgovor.

Potok 1		**Potok 2**		**Potok 3**	
Živalska skupina	**Število osebkov v vzorcu**	**Živalska skupina**	**Število osebkov v vzorcu**	**Živalska skupina**	**Število osebkov v vzorcu**
Enodnevnice	25	Enodnevnice	5	Enodnevnice	-
Vrbnice	15	Vrbnice	1	Vrbnice	-
Vrtinčarji	12	Vrtinčarji	3	Vrtinčarji	2
Trzače	34	Trzače	68	Trzače	65
Kijevke	38	Kijevke	96	Kijevke	135
Postranice	28	Postranice	4	Postranice	12

11. Ob potoku so gnojili travnike in njive z hlevskim gnojem in gnojevko. Predvidevaj, kako bo to vplivalo na potok. Kateri abiotski dejavnik se bo zaradi tega najbolj spremenil?
12. Po močnem deževju se je pretok vode v potoku močno povečal. Sklepaj, kako bo to vplivalo na življenjsko združbo potoka?
13. Proučujemo potok, ki teče po travniku. Struga potoka je kamnita, popolnoma neobrasla. Bregove potoka redno kosimo. Napovej, kakšne so lahko posledice za biocenozo potoka?
14. Razmisli, na kaj moramo biti pri delu z živimi vodnimi živalmi še posebej pazljivi, da nam organizmi v banjici oz. petrijevki ne poginejo?
15. Naštej, na kakšne načine lahko pride do onesnaženja potoka z organskimi snovmi?
16. Struga potoka je obložena z kamnitimi bloki, voda ni onesnažena z organskimi snovmi. Sklepaj, kaj bi lahko bil vzrok za zelo nizek Trent biotski indeks?
17. Izdelaj shemo pretoka energije in kroženja snovi za potočni ekosistem.
18. Predlagaj vsaj tri izboljšave, ki bi omogočile zanesljivejše rezultate.

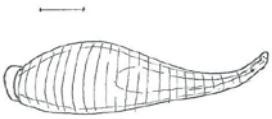
Literatura

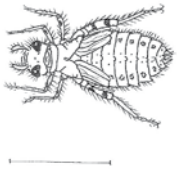
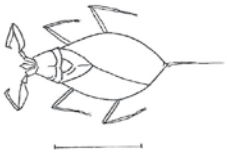
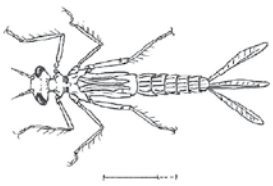
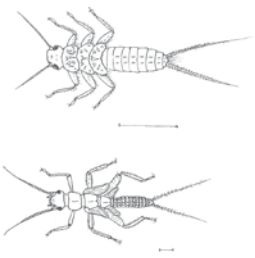
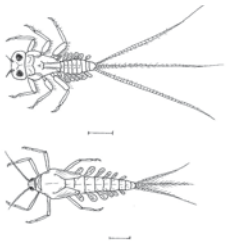
1 *Devetak, D. et al. (1998). Izbrane zoološke vsebine v izobraževanju: terensko delo. Študijsko gradivo. Maribor: Pedagoška fakulteta, Univerza v Mariboru.*

2 *Krušnik, C. (1994). Živi svet voda. Seminarsko gradivo. Ljubljana: Zavod RS za šolstvo.*

Priloga 1

Značilne živali tekočih voda

<table>
<tr><td>Pijavka
  </td><td>Vrtinčar
 </td></tr>
<tr><td>Vodni deževnik
 </td><td>Postranica
 </td></tr>
<tr><td colspan="2">Dvokrilci – ličinke

Ličinka koseninarja Ličinka muhe kijevke Ličinka muhe trzače</td></tr>
<tr><td>Mladoletnice – ličinke
 </td><td>Kačji pastirji – ličinke
  </td></tr>
<tr><td>Vodni ščipalec
  </td><td>  </td></tr>
<tr><td>Vrbnice – ličinke
  </td><td>Muhe enodnevnice – ličinke
  </td></tr>
</table>

Delovni list 1

Potok – popisni list

Ime in priimek popisovalcev			Datum
Ime potoka	Kraj, nadmorska višina		
Opis odvzemnega mesta			
Dolžina potoka	Oddaljenost od izvira		
Globina potoka	Širina struge		
Oblika, poraščenost bregov			
Oblika, poraščenost dna, tip substrata			
Vodni objekti	Bližina industrije, urbanizacije		
Hitrost vodnega toka	Temperatura vode	pH vode	Količina raztopljenega kisika
ORGANOLEPTIČNE LASTNOSTI VODE			
Barva vode	Vonj vode	Bistrost vode	
Način vzorčenja			
Prisotne skupine živali, ocena številčnosti			
Vsota vseh taksonov	Vrednost TBI		
Ocena onesnaženosti vode			

2.4.2 Fenološka opazovanja v šolski praksi

Dr. Helena Črne Hladnik, Gimnazija Šiška

Povzetek

Rastlinska fenologija spremlja razvojne stopnje rastlin in vzroke njihovega pojavljanja ob upoštevanju številnih dejavnikov, med katerimi imajo vremenski odločilno vlogo. V praksi potekajo fenološka opazovanja tako, da opazujemo izbrano rastlino in zapišemo dan pojava določene opazovane fenološke faze, kot je brstenje, olistanje, cvetenje, rumenenje in odpadanje listov ali zorenje plodov. Če pri opazovanjih dosledno upoštevamo strokovna navodila, potem imajo zbrani fenološki podatki tudi znanstveno vrednost. Na podlagi njihove nadaljnje statistične obdelave lahko bolje razumemo povezave med živimi organizmi in njihovim okoljem ter ocenjujemo vpliv podnebnih sprememb na njih.

Rastlinski fenološki podatki so uporabni pri prepoznavanju posameznih območij za gojenje določene rastlinske vrste, spremljanju alergij, ki jih povzročajo rastline, načrtovanju agrotehničnih ukrepov, pripravi agrometeoroloških napovedi, modeliranju rasti in razvoja rastlin ter navsezadnje proučevanju vpliva podnebnih sprememb na rastline (Črepinšek, 2007).

Podnebne spremembe zadnjih nekaj desetletij sprožajo razprave tako v znanstveni kot laični javnosti. Medtem ko nekateri izpostavljajo vpliv civilizacije na podnebne spremembe predvsem zaradi uporabe fosilnih goriv, pa drugi tabor utemeljuje nasprotno, namreč, da je človeški vpliv na atmosfero še vedno veliko manjši, kot je vpliv nekaterih naravnih dejavnikov. Kakor koli že, fenologija nam ponuja pristne dokaze, da se spremembe podnebja že dogajajo. Dolgoletni zgodovinski fenološki podatki nam omogočajo, da proučujemo smeri razvoja in na podlagi njih predvidevamo, kaj se lahko zgodi v prihodnosti.

V prispevku je podan predlog izvajanja fenoloških opazovanj v šolskem okolišu. Opisana je tudi možnost predstavitve in obdelave tako vremenskih kot fenoloških podatkov z uporabo IKT-orodij.

Čas izvedbe

Lahko izvajamo celoletna, samo jesenska ali samo spomladanska fenološka opazovanja.

Povezava z biološkimi koncepti in cilji iz učnega načrta za biologijo

- B – Raziskovanje in poskusi (B1 – 9)
- E – Evolucija (E3 – 1, 2, 3, 4, 5, 6)
- F – Zgradba in delovanje organizmov (F4 – 26)
- G – Ekologija (G2 – 3, 4)

Medpredmetne povezave

Fenološko temo je mogoče osvetliti tudi z vidika drugih predmetov. Hkrati pa lahko predpostavimo, da je znanje, ki ga dijaki pridobijo na način, ki predvideva njihovo dejavno vlogo v učnem procesu, uporabnejše in trajnejše. V nadaljevanju navajam nekaj možnih medpredmetnih povezav in skupnih ciljev.

- *informatika:* razvijanje digitalne in informacijske pismenosti (uporaba sodobnih informacijskih tehnologij, kot so digitalno fotografiranje, snemanje in urejanje spletnega mesta);
- *geografija:* spremljanje vremenskih razmer in ugotavljanje vpliva vremenskih razmer na rast in razvoj rastlin oziroma pojavljanje določenih fenofaz;
- *matematika (sklop statistika):* urjenje v uporabi računalniškega programa za delo s preglednicami na primeru obdelave meteoroloških in fenoloških podatkov.

Predlogi za izvajanje fenoloških opazovanj

Dijake je treba predhodno seznaniti s tem, kaj preučuje rastlinska fenologija in kakšna je njena uporabnost. Za to lahko učitelj uporabi informativno spletno mesto Agencije za okolje (*www.arso.gov.si/vreme/napovedi%20in%20podatki/fenologija.pdf*). Poleg tega dijakom učitelj predstavi še konkretna navodila za potek fenoloških opazovanj (Delovni list 1: Navodila za spomladanska fenološka opazovanja).

Za fenološka opazovanja je časovno najbolj ekonomično, da izberemo drevesa v neposredni okolici šole, če to ni mogoče, pa izberemo najbližji park. Dijake odpeljemo na teren, kjer si po dva skupaj lahko izbereta določeno drevo oziroma grm. S seboj vzamemo določevalne ključe in dijake spodbudimo, da čim natančneje določijo izbrano drevo ali grm. Druga možnost je, da dijakom damo seznam dreves, ki so primerna za fenološka opazovanja, in si dvojica izbere eno od naštetih. Nato dijaki pripravijo predstavitev svojega drevesa oz. grma, ki lahko na primer vključuje naslednje podatke: znanstveno ime, družina, splošne značilnosti, življenjska oblika (drevo/grm), velikost rastline, listi, cvetovi/socvetje, plodovi/semena, geografska razširjenost, posebnosti in zanimivosti rastline. S pomočjo nekaterih slikovnih ključev lahko dijaki napišejo tudi okvirni fenološki koledar, kar pomeni, da časovno približno opredelijo, kdaj se pojavijo posamezne fenofaze.

Na naši šoli smo v šolskem letu 2009/10 ustanovili neuradno fenološko postajo Gimnazija Šiška. S sistemom za upravljanje vsebin WordPress smo ustvarili tudi fenološko spletno mesto, ki je dostopno na *www.fenoloskapostajagimnazijasiska.wordpress.com.* Na omenjeni strani si lahko za vsa tri leta izvajanja fenoloških opazovanj ogledate galerijo fotografij dreves in grmov (razporedili smo jih v šolsko leto 2009/10, 2010/11 in 2011/12), v različnih fenofazah in z datumi pojava posameznih fenofaz. Poleg fenoloških opazovanj pa spletno mesto obiskovalce na splošno seznanja s fenologijo in navodili za opazovanja. Obstajajo tudi rubrike naravoslovna fotografija, zanimive povezave in tekoče objave (*angl. posts*).

Slika 1: Portal fenološkega spletnega mesta Gimnazije Šiške (avtorica spletnega mesta: Helena Črne Hladnik).

Delo na terenu

Fenološka opazovanja lahko izvajamo tako, da en razred spremlja jesenska, drugi pa spomladanska fenološka opazovanja. Učitelj naj bi spodbujal dijake k čim bolj samostojnemu spremljanju pojava posameznih fenofaz. Poleg tega pa je smiselno, da odpelje dijake na teren, na primer spomladi, konec marca oziroma aprila, ko je večina dreves še v mirovanju ali v fazi brstenja, in pozneje, aprila in maja, ko so pri večini dreves vidne fenofaze olistanja in cvetenja. Zaradi lažjega dela je smiselno, da naenkrat peljemo na teren samo polovico razreda. S seboj vzamemo navodila za fenološka opazovanja in fotoaparat. Vsako drevo/grm, pri katerem se kaže izoblikovana fenofaza, učenci fotografirajo od blizu in od daleč ter si zapišejo datum pojava fenofaze. Na primer: začetek cvetenja drevesa: 12. april 2011.

Delo v računalniški učilnici

Če dijaki izvajajo spomladanska fenološka opazovanja, si od druge polovice marca do začetka junija zapisujejo datume pojava posameznih fenofaz in jih fotografirajo. Sledi delo v računalniški učilnici. Dijaki se prijavijo na prej omenjeno spletno mesto in vnesejo fenološke podatke; datum pojava fenofaze in ustrezni fotografski posnetek določene fenofaze. Tako nastaja elektronski fenološki dnevnik (slika 2). Učitelj pregleda dnevnik vsake dvojice in preveri, ali sta dijaka pravilno vstavila posnetke k določeni fenofazi. Druga možnost je, da vsaka dvojica dijakov drugim predstavi svoj e-fenološki dnevnik. Smiselno je, da dijaki poleg svojega drevesa spoznajo tudi druga drevesa in njihove značilne fenološke faze. Učitelj lahko ob koncu predstavitve preko vprašanj preveri prepoznavanje posameznih fenoloških faz opazovanega drevesa ali pa na podlagi fotografije drugega drevesa preveri prepoznavanje fenofaz na novem zgledu.

Slika 2: Izsek iz elektronskega fenološkega dnevnika (avtorica spletnega mesta: Helena Črne Hladnik).

Predlogi za medpredmetno povezovanje

Biologija – geografija

Glede na to, da se fenologija ukvarja s proučevanjem vpliva vremenskih razmer na periodične pojave v razvoju rastlin, je smiselno, da dijaki poleg fenoloških opazovanj določen čas spremljajo tudi vremenske razmere, si podatke zapisujejo in jih nato statistično obdelajo. Idealno je, če imamo na šoli klasične ali digitalne vremenske postaje. Če pa tega nimamo, lahko izdelamo improvizirano vremensko hišico, kot je prikazana na sliki 3. Vanjo postavimo termometer za merjenje dnevne minimalne in maksimalne temperature, zračne vlage ter termometer za merjenje temperature tal. Dijaki nato v določenem časovnem obdobju odčitavajo izmerjene vrednosti in jih vnašajo v razpredelnico na spletnem mestu pod rubriko vreme in podatki. Na skupni uri nato razpravljamo o vplivu vremenskih razmer na pojav fenofaze pri določenem drevesu. Če imamo podatke za celo leto, lahko dijaki ugotavljajo za posamezne rastline dolžino rastne sezone. Učitelj geograf lahko sodeluje tudi tako, da vodi učence pri opisu rastišča za posamezno drevo (slika 4).

Slika 3: Improvizirana vremenska hišica (foto: Helena Črne Hladnik).

Opis opazovanega mesta: Češnja raste med 3m visokima učilnicama, v bližini vrbe. Vrba ji zakriva svetlobo in zato je češnja na V veliko bolj razvejana. Na V strani je drevo prosto osončeno, ovirajo jo le nižja drevesa.

Ime opazovanega mesta: Šiška | Najbližji kraj: Šiška

Geografska širina: 46° 04` | Geofrafska dolžina: 14° 30` | Nadmorska višina: 298 m

pH tal jeseni: 6,5 | pH tal spomladi: 6,8

Vsebnost apnenca v tleh: 3 % | Starost rastline: 23 let

Osenčenost: polsenčno rastišče | Raste na: ravnih tleh | Lega: V

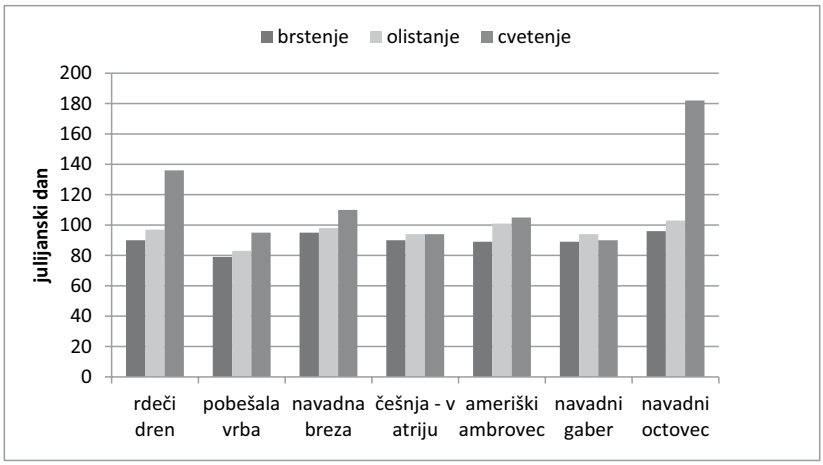
Komentar: pH smo jeseni izmerili 27.11.2009, spomladi pa 13.4.2010.

Slika 4: Opis rastišča češnje (avtorica: Helena Črne Hladnik).

Biologija – matematika (statistika)

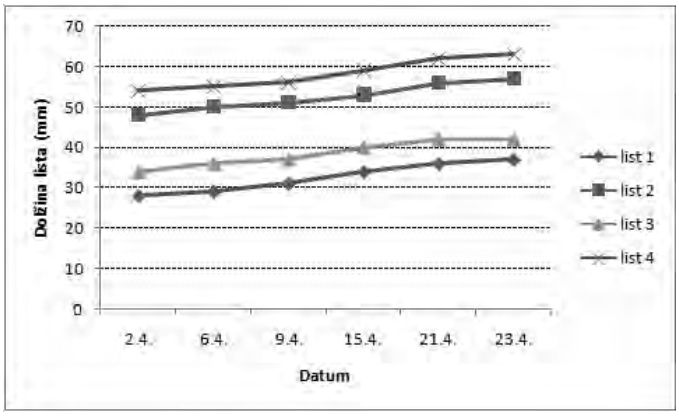
Smiselno je, da zbrane vremenske in fenološke podatke grafično prikažemo in jih interpretiramo. To lahko naredijo dijaki pri matematiki oziroma statistiki. Za to je mogoče uporabiti tudi podatke iz arhiva Agencije republike Slovenije za okolje (*http://meteo.arso.gov.si/met/sl/app/webmet/*). Iz arhiva omenjenega spletnega mesta je mogoče izbrati različne vremenske spremenljivke, kot je na primer minimalna dnevna temperatura, izmerjena na določeni vremenski postaji, za poljubno časovno obdobje.

Zanimivo je tudi grafično prikazati časovno zaporedje fenofaz oziroma fenološki koledar, iz katerega je razvidno, kdaj se pojavljajo posamezne fenofaze pri izbranih drevesih. V ta namen dijaki na vodoravno os grafa nanesejo izbrana drevesa, na navpično pa zaporedne dneve v letu (julijanski dnevi), ko smo opazili določene fenofaze (graf 1).



Graf 1: Prikaz časovnega zaporedja spomladanskih fenofaz za nekatera drevesa in grme v šolskem letu 2010/11[22].

Na nekaterih šolah morajo dijaki v sklopu statistike sami pridobiti določene podatke in jih statistično obdelati v seminarski nalogi. V povezavi s fenološkimi opazovanji lahko na primer dijaki pri svojih drevesih spremljajo njihovo olistanje in rast listov. Na rastlini, ki jo opazujejo, izberejo najprej vejo in jo označijo s trakom. Prav tako na veji označijo štiri listne popke. Po nastopu fenofaze olistanja dijaki ob vsakem opazovanju z ravnilom izmerijo dolžino lista (brez listnega peclja). Graf 2 je primer grafičnega prikaza podatkov olistanja in rasti štirih listov na eni od češnjevih vej.



Graf 2: Spremljanje olistanja in rasti češnjevih listov.

Refleksija učitelja

Priprava na fenološka opazovanja, načrtovanje in organizacije dela posameznih skupin dijakov in priprava navodil za zbiranje ter interpretacijo rezultatov so za učitelja na začetku dokaj zahtevni. Namen je gotovo dosežen, če s pomočjo fenoloških opazovanj dijake spodbudimo k večjemu spoznavanju dreves v šolskem

[22] *Grafa 1 in 2 so izdelali dijaki Gimnazije Šiška, junij 2011.*

okolišu in zavedanju pomena zelenega šolskega okoliša za prijetno bivanjsko in življenjsko okolje drugih živih bitij. Dijaki pogosto, ko okoliš dobro spoznajo, posredujejo tudi pobude za (pre)ureditev le-tega. Moja pozitivna izkušnja je, da je dijakom določanje dreves/grmov veliko zanimivejše, če to izvajamo na terenu. Prav tako pa jih z omenjeno prakso vodimo do spoznanja, da je zbiranje podatkov (fenološki, meteorološki) začetna stopnja, ki ji sledijo nadaljnja obdelava in interpretacija rezultatov ter nadgradnja dobljenih rezultatov z novimi raziskavami, ki dijaku približajo soodvisnost in povezanost dejavnikov okolja. Izkušnje kažejo, da dijaki zelo radi fotografirajo, in smiselno je, da med fenološkimi opazovanji v vitrini (ali na spletnem mestu) sproti razstavljamo najboljše fotografije.

Refleksija dijakov

V zvezi s fenološkimi opazovanji so dijaki izpostavili, da so jim všeč predvsem naslednje dejavnosti: fotografiranje dreves in izvajanje pouka tudi zunaj učilnice. Nekoliko manj so bili navdušeni nad urejanjem spletnega mesta. Nekateri so omenili, da se jim zdi tako organiziran pouk z medpredmetnimi povezavami zanimiv in poučen. Drugi so mnenja, da bi lahko zeleni šolski okoliš še lepše uredili, in so pripravljeni pri tem tudi dejavno sodelovati.

Viri in literatura

1 *Črepinšek, Z. (2010). Fenologija – koledar narave: navodila za fenološka opazovanja v šolah. Ljubljana: Prirodoslovno društvo Ljubljana.*

2 *Črepinšek, Z. (2007). Fenologija – kazalec podnebja in posledic njegovega spreminjanja. Proteus, let. 69, št. 8, str. 342-349.*

3 *Souter, N. in Lewthwaite, K. (2002). Nature in a changing climate: Phenology uncovered. The Association for Science Education.*

4 *Nature's calender [on line]. Dostopno na: www.naturescalendar.org.uk/ (11. 3. 2013).*

5 *PlantWatch [on line]. Dostopno na: www.naturewatch.ca/english/plantwatch/ (11. 3. 2013).*

6 *MetINFO - Phenological Observations [on line]. Dostopno na: www.metla.fi/metinfo/fenologia/index-en.htm (11. 3. 2013).*

7 *USA National Phenology Network [on line]. Dostopno na: www.usanpn.org/ (11. 3. 2013).*

Priloga

Delovni list: Navodila za spomladanska fenološka opazovanja

Delovni list

Navodila za spomladanska fenološka opazovanja

Opravili boste dve dejavnosti:

- *Fenološka opazovanja izbranih dreves v šolskem okolišu in zbiranje fenoloških podatkov;*
- *Vnos spomladanskih fenoloških podatkov (datumov fenofaz) na spletno mesto Fenološke postaje Gimnazije Šiška: www.fenoloskapostajagimnazijasiska.wordpress.com.*

Fenološka opazovanja boste opravljali spomladi, in sicer tako, da boste napisali točen datum pojava določene fenološke faze (npr. začetek cvetenja): 12. aprila 2012 na izbranem drevesu ali grmu. Poleg tega boste drevo oz. grm še fotografirali, in sicer od blizu (npr. veja z lističi) in daleč (celotno drevo). Datume in fotografije boste vnesli v elektronski fenološki dnevnik na spletnem mestu Fenološke postaje Gimnazije Šiška: www.fenoloskapostajagimnazijasiska.wordpress.com.

Fenološke faze, ki jih opazujete in zapisujete od pomladi do jeseni (od januarja do junija – spomladanska fenološka opazovanja) ter od julija do decembra (jesenska fenološka opazovanja), so:

Fenofaza	**Okrajšava**	**Opis fenofaze**
Brstenje	BRST	Začne se, ko opazimo prve brste.
Olistanje	OLIST	Zapišemo takoj, ko se na rastlini pojavijo prvi listi oz. pri iglavcih prvi poganjki.
Začetek cvetenja	ZCVET	Nastopi, ko se na rastlini pojavijo prvi cvetovi.
Splošno cvetenje	CVET	Začne se, ko je na opazovani rastlini zacvetela že več kot polovica cvetov.
Faza zrelih plodov	PLOD	Nastopi, ko opazimo prve zrele plodove.
Rumenenje listov	RUM	Nastopi jeseni, ko je jesensko porumenela več kot polovica listja na izbrani rastlini.*
Odpadanje listov	ODP	Nastopi jeseni, ko odpade več kot polovica listja na rastlini.

*Paziti moramo, da te faze ne zamenjamo z rumenenjem listja zaradi drugih vzrokov, na primer poletne suše ali bolezni.

Dvojica dijakov/dijakinj si izbere eno drevo oz. grm iz šolskega okoliša (v pomoč jim je lahko spodnji seznam) in s pomočjo literature izpiše njegove bistvene značilnosti. Dijaki pripravijo predstavitev svojega drevesa oz. grma, ki lahko vključuje naslednje podatke: znanstveno ime, družina, splošne značilnosti, življenjska oblika (drevo/grm), velikost rastline, listi, cvetovi/socvetje, plodovi/semena, geografska razširjenost, posebnosti in zanimivosti rastline ter okvirni fenološki koledar. Primer seznama dreves:

RDEČI DREN (*Cornus sanguinea*); NAVADNI MACESEN (*Larix decidua*); GLICINIJA (*Wisteria* sp.); POBEŠALA VRBA (*Salix x sepulcralis*); NAVADNA BREZA (*Betula pendula*); DIVJA ČEŠNJA (*Prunus avium*); NAVADNI OCTOVEC (*Rhus typhina*); AMERIŠKI AMBROVEC (*Liquidambar styraciflua*); *NAVADNI GABER (Carpinus betulus)*.

Med fenološkim opazovanjem dijaku zbirajo podatke o drevesu in njegovih fenoloških fazah. V pomoč je dijakom obrazec na naslednji strani.

OBRAZEC ZA FENOLOŠKO OPAZOVANJE

Ime in priimek opazovalca: _____

E-mail: _____

Opazovana rastlina: _____

Datum opazovane fenofaze (dan, mesec, leto) in fotografije: _____

Opis opazovanega mesta: _____

_____

Geogr. širina/dolžina: _____

Nadmorska višina: _____

*pH tal (jeseni, spomladi): _____

*Vsebnost apnenca v tleh: _____

Dodatni podatki o opazovanem mestu:

Osončenost [ ] sončno rastišče [ ] polsenčno rastišče [ ] senčno rastišče [ ]

Rastlina raste na [ ] ravnih tleh [ ] rahlo nagnjenih tleh [ ] strmem pobočju [ ]

Lega (obkroži) S SV V JV J JZ Z SZ

*Opombe:

_____

_____

_____

*__Določanje pH prsti__: V manjšo posodo damo žlico prsti, dodamo destilirano vodo in premešamo. S pH-indikatorji izmerimo pH-vrednost prsti.

*__Določanje apnenca v prsti:__ Majhno količino – vzorec prsti damo na objektno stekelce in dokapljamo 10-odstotno klorovodikovo kislino. Trajanje šumenja in njegova intenzivnost omogočata, da ocenimo količino apnenca v prsti. Uporabimo naslednjo lestvico:

- šumenje komaj zaznavno < 1 %
- šumenje slabotno in kratkotrajno 1–3 %
- šumenje intenzivno in kratkotrajno 3–5 %
- šumenje intenzivno in dolgotrajno nad 5 %

*__Opombe__: Pod to rubriko dijaki zapišejo, če opazijo kaj posebnega na drevesu. Na primer, da so listi poškodovani zaradi škodljivcev ali posebnosti v zvezi z vremenom(spomladanska pozeba, dolgotrajna suša, toča in podobno).

Primer kriterija za ocenjevanje fenoloških opazovanj

Urejenost e-fenološkega dnevnika:

- trije ustrezni datumi pojavljanja določenih fenoloških faz in šest fotografij (trije bližnji in trije oddaljeni posnetki rastline) – 9 točk, vpisane vrednosti za pH tal (1 točka) in vsebnost apnenca v tleh (1 točka) ter drugi podatki (glej obrazec za fenološka opazovanja – 4 točke) (skupaj 15 točk).
- Opis glavnih značilnosti izbranega drevesa/grma: znanstveno ime in družina; življenjska oblika (drevo/grm); velikost rastline; listi; cvetovi/socvetje; plodovi/semena; geografska razširjenost; posebnosti in zanimivosti rastline; okvirni fenološki koledar (skupaj 9 točk).

Skupaj: 24 točk

12–14,5 = 2 (zadostno); 15–17,5 = 3 (dobro); 18–20,5 = 4 (prav dobro);
21–24 = 5 (odlično)

Vprašanja za preverjanje – sistematika, zgradba in delovanje rastlin

1. Za rastline kot tudi za druge organizme je značilno dvočlensko poimenovanje. S pomočjo literature pojasnite na primeru divje češnje (*Prunus avium*), kaj pomenita omenjeni dve besedi v slovenskem oz. latinskem jeziku.

2. Glede na obliko listov določite 14 različnih drevesnih vrst. V ta namen uporabite opisni določevalni ključ, ki je grajen po dvovejnatem sistemu. Določanje poteka tako, da imamo vedno na razpolago dve trditvi, med katerima se odločamo. V našem primeru se trditve nanašajo na obliko listov. Ko izberemo trditev, ki se ujema z našo neznano vrsto, je na koncu vrstice s trditvijo številka, ki nas vodi do naslednjih dveh trditev ali pa do rešitve.

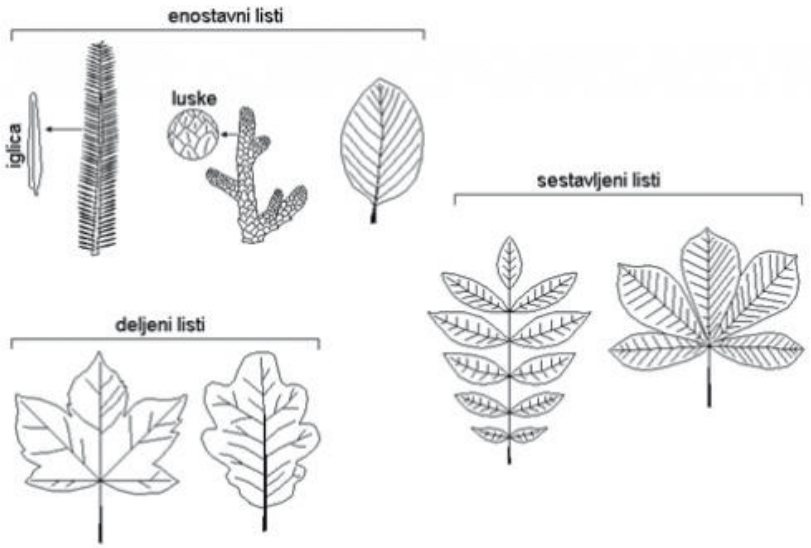
   Opomba: za izvedbo te naloge učitelj nabere ali nariše liste dreves, ki so omenjeni v ključu.

KLJUČ

1 Listi igličasti 2
1* Listi drugačni 5
2 Iglice izraščajo iz vejic posamič 3
2* Iglice izraščajo iz vejic v šopih 4
3 Iglice sploščene, spodaj z dvema svetlima progama ..... JELKA
3* Iglice štirirobe, brez svetlih prog, z ostro konico ..... NAVADNA SMREKA
4 V šopu 2 ali 5 iglic ..... RDEČI BOR
4* V šopu več kot 10 iglic ..... NAVADNI MACESEN
5 Listna ploskev cela ali deljena na krpe (deljeni list) 6
5* Listna ploskev deljena na lističe (sestavljeni list) 11
6 List deljen na 3 ali 5 večjih krp 7
6* List ni deljen ali je iz veliko plitvih krp 8
7 Listni rob nazobčan; številni, topi zobci ..... BELI JAVOR
7* Robovi glavnih krp imajo več daljših zobcev ..... JAVOROLISTNA PLATANA
8 List nazobčan ali drobno krpast 9
8* List brez krp ali zobcev 10
9 List z neenakomernimi krpami, rob valovit ..... HRAST (DOB)
9* Listni rob drobno nazobčan ..... NAVADNI GABER

10	List suličast, približno 4-krat tako dolg kor širok ..... BELA VRBA
10*	List ovalen, približno 2-krat tako dolg kot širok ..... NAVADNA BUKEV
11	List sestavljen: lističi iz ene točke 12
11*	List sestavljen: lističi izhajajo iz listnega vretena 13
12	Lističi trije ..... NAVADNI NAGNOJ
12*	Lističev vsaj pet ..... DIVJI KOSTANJ
13	Lističi pernato deljenega lista z ravnim robom ..... NAVADNA ROBINIJA
13*	Lističi pernato deljenega lista z nazobčanim robom . NAVADNA JEREBIKA

Glede na obliko listne ploskve so listi lahko enostavni – celi, deljeni in sestavljeni.



Slika 1: Deljeni list ima lahko plitvejše krpe (npr. hrast) ali pa večje krpe (3–5) npr. javor ali platana. Sestavljeni list; lističi lahko izhajajo iz ene točke ali iz listnega vretena (Vir: *http://www.cpi.si/files/cpi/userfiles/Lesarstvo_tapetnistvo/2-DREVO.pdf* (13. 2. 2013).)

3. Skicirajte češnjev cvet in na skici s puščico označite naslednje strukture: venčni in čašni listi, prašnik, pestič.
4. Na skici pestiča s puščico označite brazdo, vrat, plodnico in semensko zasnovo.
5. Na skici prašnika s puščico označite prašnično nit in prašnico.
6. V češnjevem cvetu najdemo tako pestič kot številne prašnike. Govorimo o enospolnem/dvospolnem cvetu. Ustrezno obkrožite.
7. Cvetove po obliki delimo v zvezdaste ali somerne. Češnjev cvet je _____ cvet. Ustrezno obkrožite.
8. Glede na zgradbo, obliko in barvo češnjevih cvetov predvidevajte, ali divjo češnjo, glede na način prenosa peloda, uvrščamo med vetrocvetke ali žužkocvetke. Odgovor ustrezno utemeljite.
9. Pojasnite način razširjanja plodov divje češnje.
10. Naštejte tri drevesa, ki jih glede na razširjanje peloda uvrščamo med vetrocvetke.

11. Na fotografiji brezove vejice označite skupke moških in ženskih cvetov (socvetja), ki so ločeni na isti rastlini. Govorimo o enospolnih/dvospolnih cvetovih. Ustrezno obkrožite.

Slika 2: Brezova vejica (foto: Helena Črne Hladnik).

12. Na zgornji fotografiji so opazni tudi lanski plodovi. Označite jih s puščico in predvidite, kako poteka razširjanje semen pri brezi.

13. Spodnja fotografija prikazuje gabrovo vejico, na kateri so vidni skupki ženskih in moških cvetov (socvetja). Označite jih s puščico. Kako bi lahko ugotovili, ali gaber že cveti?

14. Razširjanje peloda pri gabru omogoča veter. Navedite tri značilnosti cvetov, ki so značilne za vetrocvetke.

Slika 3: Gaber (foto: Helena Črne Hladnik).

15. Grafično prikažite fenološke podatke za drevesa, navedena v spodnji preglednici. Julijanski dan pomeni zaporedni dan v letu.

Preglednica 1: Fenološki podatki za nekatera drevesa

	JULIJANSKI DNEVI 2010/11		
drevesa	brstenje	olistanje	cvetenje
rdeči dren	90	97	136
pobešala vrba	79	83	95
navadna breza	95	98	110
divja češnja	90	94	94
ameriški ambrovec	89	101	105
navadni gaber	89	94	90
navadni octovec	96	103	182

16. Predvidite, kateri podnebni dejavniki najbolj vplivajo na čas pojava fenofaz?

2.4.3 Ocenjevanje velikosti populacije z označevanjem osebkov

Dr. Al Vrezec, Nacionalni inštitut za biologijo, Prirodoslovni muzej Slovenije, Ljubljana
Petra Vrh Vrezec, DOPPS – BirdLife Slovenia, Ljubljana

Povzetek

Osnovni podatek pri opisu populacije je njena velikost, torej število osebkov, ki populacijo tvorijo. Osebki pa so v prostoru navadno razpršeni, zato je ocenjevanje velikosti populacije navadno zapleteno. Pogosto vseh osebkov v populaciji zaradi različnih razlogov sploh ni mogoče opaziti. Naloga zato omogoča dijakom, da se seznanijo z metodo označevanja osebkov, ki je ena izmed splošno uporabljenih metod v ekologiji. S preprosto metodo lova in ponovnega ulova lahko ugotavljajo velikosti populacij izbranih vrst tako v laboratoriju (vzorčenje mokarjev, paličnjakov ipd.) kot v naravi z vzorčenjem prosto živečih populacij živali (prašički, koloradski hrošči, mravlje ipd.). Naloga odpira številne možnosti za razpravo iz teme populacijske ekologije.

Predlagani čas za izvedbo dejavnosti

- ena ura kabinetnega dela (priprava na praktično delo),
- dve uri vzorčenja (individualno ali razredno delo),
- dve uri obdelave podatkov (individualno ali razredno delo),
- dve uri razprave o zbranih rezultatih in priprava pisnega izdelka.

Povezava z učnim načrtom

- B – Raziskovanje in poskusi (B1)
- G – Ekologija (G1-3, G2-5, G2-7, G2-8)
- L – Kako deluje znanost (L8, L9; L11, L12)

Medpredmetne povezave

- *matematika*: sklop statistika (interpretacija rezultatov)

Uvod

Velikost populacije je zelo pomemben parameter v ekologiji, saj gre za osnovni podatek, ki opiše populacijo izbrane vrste na izbranem prostoru. Tako lahko ugotovimo, na kakšnih območjih živi večja populacija izbranih osebkov in ali je viabilna. Če pa želimo s populacijo upravljati, pa moramo, denimo, pri načrtovanju odvzema osebkov iz narave pravzaprav vedeti, koliko jih sploh je. Ocenjevanje velikosti populacij izbranih vrst v naravi je zaradi navadno razpršene razporeditve osebkov po prostoru dokaj težavno. Obstaja več načinov, kako se te naloge lotiti. Eden je merjenje absolutne gostote osebkov. Pri tem si izberemo znano površino, na kateri preštejemo vse osebke. Če predvidevamo, da je na nekem območju gostota živali

na celem območju bolj ali manj enaka, lahko iz naših vzorčnih ploskev, kjer smo ugotovili, koliko osebkov živi na dani površini (npr. št. osebkov/10 m^2), predvidevamo, koliko osebkov živi na celotnem območju. Na primer, če smo na vzorčni ploskvi ugotovili absolutno gostoto 5 osebkov/10 m^2, to pomeni, da jih na 100 m^2 živi skupaj okoli 50. Metoda je uporabna zlasti pri nemobilnih, torej pritrjenih osebkih, denimo pri rastlinah, manj pa pri mobilnih živalih, saj je izloviti oziroma prešteti vse osebke na vzorčni ploskvi težko ali celo nemogoče. Poleg tega se organizmi pogosto pojavljajo v okolju v skupinah, kar še dodatno otežuje naše ocenjevanje velikosti populacije. Zato se zlasti pri živalih uporabljajo druge metode, ki so natančnejše. Ena takih je metoda lova in ponovnega ulova.

Metoda lova in ponovnega ulova je uporabna in preprosta metoda za ugotavljanje velikosti populacije, najpogosteje uporabljeni princip pa je Joly-Seberjeva metoda. Raziskovalca sta prišla do spoznanja: če na določnem območju ulovita in označita živali, jih spustita nazaj med neoznačene osebke v naravi, čez nekaj časa pa spet ulovita osebke iz iste populacije, tako označene kot neoznačene, lahko s pomočjo preproste matematične formule ugotovita, kolikšna je celotna velikost populacije živali. Predvidevala sta, da je delež označenih živali v populaciji sorazmeren deležu označenih živali v vzorcu ponovno ulovljenih osebkov. Imamo torej podatek o celotnem številu označenih živali in o deležu označenih osebkov v populaciji, kar je dovolj za preprosto oceno velikosti populacije. Pomembno pri tem je, da je populacija bolj ali manj zaprta. To pomeni, da se njena številčnost med prvim in drugim lovom ne spreminja. Njena številčnost se namreč lahko spreminja zaradi štirih populacijskih procesov: rodnosti, umrljivosti, priseljevanja in odseljevanja. Jasno je, da nobena populacija vsaj dolgoročno ni zaprta, lahko pa je zaprta kratkoročno. To lahko zagotovimo le, če med prvim in drugim lovom ni preteklo preveč časa, da bi se število osebkov v populaciji bistveno spremenilo. Ugotavljamo torej velikost populacije v danem času in prostoru! Ne pozabimo pa, da je podvržena nihanjem števila osebkov, ki jim pravimo populacijska dinamika, zato je njena velikost odvisna od populacijskih procesov. Število osebkov iste populacije v nekem drugem obdobju merjenja bo nemara drugačno od našega merjenja.

Cilj naloge je, da dijaki na praktičen način spoznajo, kako je mogoče ocenjevati velikost populacije izbrane vrste, in da se obenem seznanijo z metodo označevanja, ki je ena izmed splošno uporabljenih metod v ekologiji. Naloga odpira možnosti za razmišljanje o populacijskih procesih, hkrati pa zaradi označevanja dijaki lahko spoznavajo organizem ali osebek kot del populacije. Torej, ali zares vidimo vedno iste osebke, ali se nam to zaradi podobnosti pravzaprav le zdi? Ali lahko zgolj iz števila opazovanih osebkov ocenimo, ali je populacija velika ali ne? Koliko osebkov populacije je nam pravzaprav skritih? To je le nekaj vprašanj, ki jih bo naloga sprožila pri dijakih in ki so bistvena za razumevanje populacije kot enega ključnih ekoloških pojmov. Naloga omogoča samostojno načrtovanje, zbiranje podatkov, obdelavo in vrednotenje rezultatov ter postavljanje sklepov, zato je lahko tudi osnova za interno oceno pri maturi.

Material

Za izvedbo naloge potrebujemo naslednji material:

- gojišče hroščev mokarjev, čričkov, kobilic, paličnjakov, polžev ipd. (živali, ki jih lahko v večjih samoobnavljajočih populacijah gojimo v laboratoriju),

- terarij,
- pinceto,
- škatlo za izlovljene osebke,
- lak za nohte,
- beležko (popisni obrazec),
- pisalo,
- računalnik,
- (baterija za lovljenje nočno dejavnih živali).

Izvedba

Nalogo lahko izvajamo v laboratoriju ali na terenu, skupinsko ali individualno. Teoretično lahko nalogo izvajamo pri skoraj vseh mobilnih živalskih vrstah. Praktično pa smo omejeni z možnostjo označevanja, učinkovitostjo lova, kakor tudi z možnostjo nedvoumnega določevanja izbrane vrste. Za uspešno izvedbo naloge, katere glavni namen je spoznavanje koncepta populacije, je ustrezen izbor preučevane vrste. V laboratoriju si v ta namen lahko izberemo katero izmed gojenih vrst, ki jih gojimo v večjem številu, kot so na primer hrošči mokarji, črički, kobilice, paličnjaki, polži ipd. Za naš namen v nalogi si bomo izbrali mokarje *(Tenebrio molitor)*, principe vzorčenja in ocenjevanja velikosti populacije pa lahko prenesemo tudi na druge vrste. Če se odločimo za izvajanje naloge na terenu v naravi, je izbor ustrezne vrste še bolj ključnega pomena, saj moramo pri vzorčenju zadostiti pravilu zaprte populacije (glej uvod) in izbrati vrsto, pri kateri osebki niso razpršeni po prevelikem prostoru. Temu ustrezajo živali, kot so prašički, vrtni polži, koloradski hrošči, mravlje ipd., čeprav lahko principe prenesemo tudi na druge vrste. V naši nalogi bomo uporabili le enkratni lov in ponovni ulov z enotno oznako za vse osebke, kar je najenostavnejši način ocenjevanja velikosti populacije. Oceno velikosti populacije je mogoče izboljšati z večkratnimi ponovitvami lovov in z individualnim označevanjem osebkov, a je izračunavanje ocene na ta način nekoliko bolj zapleteno in neprimerno za srednješolsko raven (za morebitno nadgradnjo glej Krebs, 1999).

Kabinetno delo

Pred izvedbo naloge naj se dijaki seznanijo s podrobnostmi o biologiji in ekologiji izbrane vrste, pri čemer lahko literaturo razdelimo med dijake, ki naj svoje ugotovitve predstavijo v skupni diskusiji.

Pred začetkom terenskega dela je treba poznati nekaj omejitev, ki jih ima metoda lova in ponovnega ulova:

a) označeni in neoznačeni osebki se morajo loviti naključno z enako verjetnostjo,

b) umrljivost označenih in neoznačenih osebkov mora biti enaka (torej, oznaka na preživetje osebka ne sme imeti vpliva),

c) označeni osebki se morajo razporediti enakomerno med neoznačene osebke,

d) oznake na osebkih se ne smejo izbrisati (trajnost oznake v obdobju našega poskusa).

Dijake je treba seznaniti z načinom lova (vzorčenja) in označevanja ter vodenja evidence o označenih in ponovno ujetih osebkih. Končni cilj je seveda odgovor na vprašanje: Koliko osebkov izbrane vrste živi v dani populaciji oziroma na danem prostoru?

Viri in priporočena literatura

1 *Bole, J. (1969). Mehkužci (Mollusca). Ključi za določevanje živali. Ljubljana: Društvo biologov Slovenije.*

2 *Chinery, M. (1989). 1000 idej za naravoslovce. Ljubljana: DZS.*

3 *Krebs, C. J. (1999). Ecological Methodology. Chicago: Addison Wesley Longman, Inc.*

4 *Mršić, N. (1997). Živali naših tal. Ljubljana: Tehniška založba Slovenije.*

5 *Tarman, K. (1992). Osnove ekologije in ekologija živali. Ljubljana: DZS.*

6 *Tome, D. & Vrezec, A. (2010). Evolucija, biotska pestrost in ekologija: Ekologija. Ljubljana: DZS.*

Delovni list 1

Ocenjevanje velikosti populacije z označevanjem osebkov

Vzorčenje

Kako bomo vzorčili, je odvisno od tega, ali bomo ocenjevali velikost laboratorijske ali prosto živeče populacije. Način lova je zato pomemben za verodostojnost naših rezultatov. Zbrane podatke lahko prikažemo v tabeli (Preglednica 1), ki jo uporabimo pri nadaljnjem izračunavanju.

Preglednica 1: Število ujetih in označenih osebkov pri dveh lovih. V prvem lovu vse ujete osebke označimo in jih izpustimo, pri drugem pa preštejemo število ujetih označenih in neoznačenih osebkov.

Lov	Datum	Število vseh ujetih	Število ujetih neoznačenih osebkov	Število ujetih označenih osebkov
1				
2				

1 Vzorčenje laboratorijske populacije mokarjev

Mokarje navadno gojimo v terarijih z nasuto hrano, kosmiči, moko ipd. Večina živali živi zakopanih v substrat, nekaj pa jih vedno najdemo na površini. Za nalogo izberemo večjo posodo z dobro populacijo mokarjev, v kateri ne manjka tako ličink kot hroščev. Lahko vzorčimo le odrasle hrošče, lahko pa tudi ličinke, pri katerih je treba nekaj več spretnosti pri označevanju (POZOR: navadno so v gojišču ličinke različnih starosti, torej različno velike ličinke, pri čemer lahko ločimo vsaj majhne in velike ličinke). Pomembno je, da se že na začetku raziskave odločimo, kaj bomo vzorčili, ker bo naša ocena veljala le za razvojni stadij, za katerega se bomo odločili. Če bomo označevali le hrošče, bomo na koncu lahko izračunali le oceno števila hroščev v gojišču. Če bomo označevali vse razvojne stadije (različne velikosti ličink in hrošče), je pomembno, da vodimo ločeno evidenco označevanja in ulova vsakega stadija posebej (ločena preglednica za vsak stadij). Na koncu bomo lahko izračunali število vsakega stadija, ki skupaj predstavljajo celotno populacijo mokarjev v gojišču. Ob tem lahko ocenimo tudi delež vsakega stadija v populaciji, s čimer ugotavljamo starostno strukturo populacije, ki je še eden od pomembnih populacijskih parametrov. Pri prosto živečih populacijah žuželk je ta parameter pravzaprav izjemno težko ugotavljati.

Vzorčenje mora biti čim bolj nepristransko, zato je najbolje, da lovimo le živali na površini in NE kopljemo v substrat! Eno obdobje lova naj traja 10 minut pri manjšem in 15 minut pri večjem gojišču. Pri tem s pinceto polovite vse opažene osebke (hrošče in/ali ličinke) **na površini** in jih spravite v škatlo. V preglednico 1 zapišite, koliko osebkov (posameznega stadija) ste ujeli prvi dan. Vsak ulovljeni osebek **označite** z lakom za nohte. Najbolje, da označujete kar s piko ali črtico. Vse označene živali iz škatle **spustite** nazaj v gojišče. Naslednji dan ob istem času ponovite postopek lova. V škatlo boste nabrali tako označene kot neoznačene osebke. Preštejte vse ujete in posebej še označene osebke ter v preglednico 1 vpišite obe številki. Če ob drugem lovu ne boste ujeli nobenega označenega osebka, potem vse ulovljene osebke označite in jih prištejte k označenim osebkom iz prejšnjega lova. Postopek lova ponovite zopet naslednji dan. Postopek ponavljajte, dokler ne boste ulovili tudi označenih

osebkov, vendar postopka ne smete ponavljati dlje od tedna dni, saj se lahko medtem velikost populacije zaradi populacijskih procesov spremeni. V tem primeru je najboljša rešitev ponovna nastavitev poskusa z daljšim časom vzorčenja, kar pomeni večje število ujetih osebkov ob enem lovu.

Podobno se lahko lotimo tudi vzorčenja drugih vrst z laboratorijskimi populacijami, vendar moramo ravno tako zagotoviti čim bolj nepristransko vzorčenje. To pomeni, da je verjetnost ponovnega ulova vseh osebkov enaka ne glede na označenost. Pri tem si lahko pomagamo tudi z različnimi pastmi z vabo ali brez. Označimo in preštejemo pri tem le osebke, ki so se ujeli v pasti. Past je lahko, denimo, kozarec z vabo (hrano) ali brez, kar je lahko učinkovito na primer pri čričkih. Kozarec nastavimo tako, da osebki vanj padejo naključno ali pa sami zlezejo vanj zaradi vabe. Pri vodnih polžih v akvariju pa lahko nepristranskost našega vzorčenja zagotovimo na primer tako, da poberemo le polže s sprednje stene akvarija, drugih pa ne.

2 Vzorčenje prosto živeče populacije živali

Za vzorčenje prosto živečih populacij živali je potrebnega nekaj več predznanja, saj je vzorčenje na terenu zahtevnejše, uporabiti pa moramo učinkovito metodo, s katero bomo lahko zajeli dovolj velik del populacije. Pri prosto živečih populacijah točne omejitve časa vzorčenja niso potrebne. Ideja je preprosta: več osebkov označimo, več možnosti je, da bomo ponovno ujeli več označenih osebkov, s čimer bo mogoče natančneje oceniti velikost populacije. Drugi ponovni lov izvedemo po enakem protokolu kot prvega ter preštejemo vse in označene osebke. Če označenih osebkov nismo ujeli, vse na novo ujete osebke označimo, lov pa zopet ponovimo naslednji dan. To ponavljamo toliko časa, dokler ne ujamemo v vzorec tudi označenih osebkov, podobno kot v protokolu, opisanem pri vzorčenju laboratorijske populacije mokarjev. Prosto živeče populacije so navadno večje, zato je verjetnost večkratnih ponovnih lovov večja! Ujete živali je najbolje označiti in izpustiti na mestu ulova, da zagotovimo načelu enakomerne razporeditve označenih osebkov med neoznačene. Podobno kot mokarje tudi te označujemo z lakom za nohte. Najprimernejše prosto živeče živalske vrste za izvajanje naloge so živali tal. Za izbor vrst, določanje in spoznavanje ekoloških značilnosti talnih živali glej tudi Mršić (1997).

Nekaj primerov lova in označevanja prostoživečih živalskih vrst:

PRAŠIČKI (*Oniscidea*)

Prašički ali kočiči so kopenski raki enakonožci ali mokrice (Isopoda), ki izbirajo vlažna okolja. Čez dan sicer niso tako dejavni kot ponoči, ko iščejo hrano, a se jih lahko najde tudi podnevi pod kamni, debli ali podobnim materialom. Nočni lov z baterijo pa je vsekakor učinkovitejši. Pri tem je najlažje izbrati steno ali zid, na kateri se prašički ponoči radi zbirajo, zlasti pozidni prašiček *(Oniscus asellus)*. Za pomoč pri določanju si pomagaj z Mršić (1997).

POLŽI (*Gastropoda*)

Polži s hišicami so zaradi enostavnega označevanja primerni za izvedbo naloge. Težave pa povzročata njihova pretežno nočna dejavnost in predvsem povečana dejavnost v vlažnih dneh in obratno: zmanjšana v suhih dneh. Zaradi tega je treba vzorčenje opraviti v kratkem časovnem obdobju, priporočljivo v zaporednih in po možnosti vlažnih dneh. Nekatere vrste, na primer veliki vrtni polž *(Helix pomatia)* in nekatere druge vrste tega rodu, so lahko določljive in recimo na vrtovih pogoste.

Za nalogo si izberemo seveda eno vrsto, pri določanju pa si lahko pomagamo z delom Bole (1969).

KOLORADSKI HROŠČ *(Leptinotarsa decemlineata)*

Koloradski hrošč je tujerodna vrsta hrošča, izvorno iz Severne Amerike, ki se hrani zgolj z razhudnikovkami, pretežno listi krompirja. Na krompirjevih njivah doseže večje gostote, populacija pa je večinoma omejena na samo njivo in zato primerna za našo nalogo. Na krompirjevih njivah bomo našli tako odrasle črnoprogaste hrošče kot rdeče ličinke. Omejimo se le na odrasle hrošče, saj je mehke in navadno zelo številne ličinke precej težko označevati. Za vzorčenje si izberemo krompirjevo njivo, na kateri med izvajanjem naše naloge ne bodo škropili, pobirali ali kako drugače zmanjševali populacije koloradskega hrošča, kar bi lahko vplivalo na našo oceno velikosti populacije. Ker gre za dokaj omejeno in v okolju jasno prepoznavno površino, lahko pri enem vzorčenju pregledamo celotno njivo in označimo vse opažene hrošče. Hrošče označimo in izpustimo na mestu najdbe. Drugi lov ponovimo po isti metodi naslednji dan. V primeru koloradskih hroščev lahko tudi ocenimo, koliko hroščev živi na hektarju krompirjeve njive in primerjamo med seboj različno velike njive, če bi nalogo kot individualno opravljalo več dijakov.

MRAVLJE (*Formicidae*)

Socialne žuželke, na primer mravlje, ose, čebele, čmrlji in termiti, živijo v gnezdih navadno tudi v večjem številu. Za dijake bi bila gotovo nadvse zanimiva naloga ugotoviti, koliko delavk pravzaprav živi v takem gnezdu. Pri tem si je zaradi enostavnosti najlažje izbrati gnezdo mravelj, zlasti katere izmed večjih vrst, npr. rdečo gozdno mravljo *(Formica rufa)*, ki jih bo lažje označevati. Vzorčimo na samem mravljišču ali ob njem. V prvem lovu označimo 20 do 100 osebkov, odvisno od velikosti mravljišča. Drugo vzorčenje lahko ponovimo že čez eno uro, vzorčenja pa bomo morali verjetno večkrat ponoviti, saj bo treba vsaj pri večjih gnezdih označiti večje število osebkov, da bomo lahko pozneje ponovno ulovili katero izmed označenih mravelj. V mravljišču naj bi namreč živelo nekaj tisoč mravelj, zato je naloga primernejša za vztrajnejše dijake.

Obdelava podatkov

V splošnem smo opravili dve vzorčenji (vse ponovitve vzorčenja brez ulova označenega osebka štejemo za prvo vzorčenje, drugo vzorčenje pa prvo z ulovljenim označenim osebkom). Pri prvem vzorčenju smo osebke ulovili, prešteli (A), jih označili in izpustili (preglednica 2). V drugem vzorčenju smo v ponovnem lovu prešteli neoznačene (B) in označene osebke (C).

Preglednica 2: Rezultat lova in ponovnega ulova.

Lov	Število vseh ujetih	Število ujetih neoznačenih osebkov	Število ujetih označenih osebkov
1	A	A	
2	B + C	B	C

Velikost populacije mokarjev, prašičkov, polžev, koloradskih hroščev, mravelj ali drugih živali je mogoče izračunati po sledečem postopku:

1. Delež označene populacije

Najprej ocenimo, kolikšen delež populacije (D) predstavljajo označeni osebki po formuli:

$$\text{delež označene populacije} = \frac{\text{št. označenih osebkov 2. lov}}{\text{št. vseh ulovljenih osebkov 2. lov}}$$

oziroma (glej preglednico 2):

$$D = \frac{C}{B + C}$$

2. Ocena velikosti populacije

Zdaj vemo, koliko osebkov v populaciji je dejansko označenih (A) in koliki delež populacije ti predstavljajo (D). Ker sta si A in D v premem sorazmerju, lahko ocenimo velikost populacije po preprosti formuli, ki izhaja iz križnega računa:

$$\text{velikost populacije} = \frac{\text{št. označenih osebkov 1. lov}}{\text{delež označene populacije}}$$

ali

$$y = \frac{A}{D}$$

Če zapišemo celotno formulo skupaj glede na podatke, navedene v preglednici 2, to pomeni:

$$y = \frac{A \text{ x } (B + C)}{C}$$

Naša ocena je tem bolj točna, čim višji je C (št. označenih osebkov 2. lov). Pri laboratorijskih populacijah, na primer pri mokarjih, pa lahko po končanih izračunih preverimo točnost naše ocene velikosti populacije s pregledom celotnega gojišča in s štetjem vseh osebkov v gojišču.

3. Praktičen primer preračunavanja

Recimo, da smo v laboratorijski populaciji neke vrste paličnjaka želeli ugotoviti starostno strukturo in velikost populacije z metodo lova in ponovnega ulova. Po opravljenem vzorčenju smo dobili naslednji rezultat za tri starostne skupine, ki smo jih ločili po velikostih (majhni, srednji, veliki):

Majhni paličnjaki

Lov	Datum	Število vseh ujetih	Število ujetih neoznačenih osebkov	Število ujetih označenih osebkov
1	19. 4. 2012	15	15	
2	20. 4. 2012	14	13	1

Srednji paličnjaki

Lov	Datum	Število vseh ujetih	Število ujetih neoznačenih osebkov	Število ujetih označenih osebkov
1	19. 4. 2012	56	56	
2	20. 4. 2012	68	46	22

Veliki paličnjaki

Lov	Datum	Število vseh ujetih	Število ujetih neoznačenih osebkov	Število ujetih označenih osebkov
1	19. 4. 2012	46	46	
2	20. 4. 2012	55	21	34

Izračunali smo, da je v naši laboratorijski populaciji 210 majhnih paličnjakov, 173 srednjih paličnjakov in 74 velikih paličnjakov, oziroma da je naša laboratorijska populacija paličnjakov konec aprila 2012 štela 457 osebkov. Primer nam tudi kaže, da zgolj iz števila opazovanih osebkov ni mogoče sklepati na dejansko število osebkov. Velikih paličnjakov smo ulovili več kot majhnih preprosto zato, ker so bili bolj opazni, ne pa zato, ker bi bili bolj številčni! Iz zbranih podatkov lahko sklepamo tudi o starostni strukturi populacije, v kateri je 46 odstotkov majhnih, 36 odstotkov srednjih in zgolj 16 odstotkov velikih paličnjakov. Takšna starostna struktura populacije je pričakovana z upoštevanjem dveh populacijskih procesov: (1) rodnosti, ki dodaja nove osebke v najmlajši razred (npr. majhni paličnjaki), in (2) umrljivosti, ki se povečuje s staranjem osebkov.

Vprašanja za diskusijo

1. Razmisli, kaj vpliva na točnost ocen velikosti populacije po metodi lova in ponovnega ulova in kakšni procesi vplivajo na to, da pri drugem lovu ulovimo več ali manj označenih osebkov, glede na delež, ki so ga ti ob prvem lovu predstavljali? Kako lahko rešujemo ta metodološki problem?
2. Si pričakoval takšno velikost populacije? V čem vidiš pomen preverjenih znanstvenih metod v primerjavi s sicer lažjimi in cenejšimi ocenami na oko?
3. Zakaj je populacija opazovanih živali navadno večja, kot pa bi sklepali iz števila opazovanih osebkov? V katerih primerih misliš, da ni nujno tako?
4. Kaj bi z označevanjem prosto živečih osebkov v naravi lahko še ugotavljali?

2.4.4 Ocenjevanje vrstne pestrosti ptic in naravovarstveno vrednotenje območij

Petra Vrh Vrezec, DOPPS – BirdLife Slovenia, Ljubljana
Dr. Al Vrezec, Nacionalni inštitut za biologijo, Prirodoslovni muzej Slovenije, Ljubljana

Povzetek

Poznavanje biotske raznovrstnosti je danes ključno za razumevanje številnih, tudi družbeno pomembnih tem, povezanih z varstvom okolja in ohranjanjem narave. V nalogi se dijaki praktično seznanijo z ocenjevanjem vrstne pestrosti s štetjem ptic na krmilnicah ali vodnih telesih ter tako spoznajo, da se vrstna pestrost ptic v različnih okoljih razlikuje. S pomočjo ugotavljanja števila ogroženih in/ali tujerodnih vodnih vrst ptic je mogoče oceniti tudi naravovarstveno vrednost popisanih območij. Število vrst je torej eno izmed meril biotske pestrosti. Pestrost in zgradbo življenjske združbe lahko opišemo s številom, številčnostjo in dominanco vrst ter z oceno pestrosti s t. i. diverzitetnim indeksom.

Čas za izvedbo dejavnosti

- ena do dve uri kabinetnega dela (priprava na terensko delo),
- ura in pol opazovanja (3 x 30 minut),
- dve uri obdelave podatkov,
- dve uri razprave o zbranih rezultatih in priprava pisnega izdelka.

Povezava z učnim načrtom

- B – Raziskovanje in poskusi (B1-3, B1-4)
- G – Ekologija (G1-3, G2-5, G2-7, G3-16, G4-19)
- K – Človek in naravni viri (K28, K29)
- L – Kako deluje znanost (L5, L8, L9)

Medpredmetne povezave

- *matematika*: sklop statistika (interpretacija rezultatov)

Uvod

S popisovanjem vrstne pestrosti v različnih ekosistemih naj bi se po novem učnem načrtu srečal vsak dijak, ki se v gimnaziji pri biologiji odloči za izbirno temo Človek in naravni viri. Poznavanje biotske raznovrstnosti in njenega pomena je danes ključno za razumevanje številnih, tudi družbeno pomembnih tem, povezanih z varstvom okolja in ohranjanjem narave. Upadanje biotske pestrosti je danes

svetovni problem, zaradi katerega so Združeni narodi leto 2010 razglasili za mednarodno leto biotske raznovrstnosti. Zaradi tega je pomembno, da dijaki spoznajo metode ocenjevanja biotske pestrosti in se na empiričen način prepričajo o tem, da se biotska pestrost med posameznimi ekosistemi lahko zelo razlikuje. Za naše razumevanje biotske pestrosti je najbolj priročna vrstna pestrost, čeprav biotska pestrost vključuje še nekatere druge vidike pestrosti. Ugotavljanje vrstne pestrosti je najpogostejši in osnovni način ocenjevanja biotske pestrosti. Torej koliko vrst živi na nekem območju. Pri tem nas ne zanima le število vrst, ampak tudi njihova številčnost. Navadno so najbolj pestre življenjske združbe tiste, ki imajo veliko vrst z majhnim številom osebkov. Ob različnih posegih v prostor, ki jih povzroča človek, navadno veliko vrst iz združbe izgine, tiste, ki jim uspe v novem okolju preživeti, pa lahko razvijejo zelo številčne populacije. Biotska pestrost v tem primeru upade in dobimo združbo z majhnim številom vrst, ki pa imajo navadno zelo veliko osebkov. Na podlagi popisov je mogoče združbo tudi analizirati tako, da ugotavljamo, koliko ogroženih vrst jo naseljuje. To pa je podatek, ki nam bo povedal, ali je neko območje varstveno pomembno ali pa, da je ekosistem ogrožen.

Za praktično izvedbo popisa biotske pestrosti z dijaki je ključno, da izberemo takšno skupino vrst, pri kateri bodo lahko dijaki popisali bolj ali manj vse vrste. Za to potrebujemo enostaven način popisovanja in dodelane metode določevanja, po možnosti na terenu. Takšnih skupin pa ni veliko, med možnostmi lahko omenimo drevesa, dnevne metulje (omejeno število vrst) in ptice. Ptice so ena najbolj preučevanih in poznanih skupin živih bitij. Z raziskavami njihove vrstne pestrosti v različnih ekosistemih so obvarovali že marsikatero dragoceno območje. Namen tega opazovanja je spodbuditi učitelje in dijake k popisu vrstne pestrosti ptic tako rekoč na domačem pragu. Z lastnimi spoznanji ob takem popisu bodo lažje razumeli, kako se območja razlikujejo po biotski pestrosti in kako lahko ocenimo njihovo naravovarstveno vrednost. Naloga je primerna za skupinsko in individualno izvedbo ter omogoča samostojno načrtovanje, zbiranje podatkov z opazovanjem, obdelavo in vrednotenje rezultatov ter postavljanje sklepov, zato je lahko tudi osnova za interno oceno pri maturi.

Material

- krmilnica,
- daljnogled,
- teleskop,
- popisni obrazec,
- pisalo,
- ključ za določanje ptic,
- računalnik.

Izvedba

V nalogi se bomo osredotočili na dva enostavna načina štetja ptic, pri katerih je lažje zagotoviti večjo določljivost opazovanih osebkov: (1) štetje na krmilnicah in (2) zimsko štetje na vodnih površinah. Nalogo je priporočljivo oblikovati tako, da

dijaki izvajajo popise individualno na različnih krajih, ki se med seboj razlikujejo glede na okolje, rezultate pa potem med seboj primerjajo z uporabo enakih analiz. Čas za izvajanje naloge je zimsko obdobje. Opazovanje na krmilnicah bo najučinkovitejše v času snega, največ vodnih ptic pa je na vodah med oktobrom in marcem.

Priporočena literatura in viri

1 *BirdLife International (2004). Birds in the European Union: a status assessment. Wageningen, The Netherlands: BirdLife International.*

2 *Blažič, B. (2010). »Pogostejše vrste rac v Sloveniji«. Svet ptic 16 (3): 19–21. Dostopno na: http://www.ptice.si/projekti/svetptic/slike/Izobrazevanje/Race/svet%20ptic%2003%20september%20plakat%20race.pdf (11. 3. 2013).*

3 *Bordjan, D. (2008). »Rod rac (Anas) v Sloveniji.« Svet ptic 14 (4): 6–11. Dostopno na: http://www.ptice.si/projekti/svetptic/slike/SP_PDF/SP_1404.pdf (11. 3. 2013).*

4 *Devetak, B., Devetak, D., Tome, D., Vrezec, A., Belušič, G. & Žinko, B. (2011). Vedenje živali, Biotehnologija in mikrobiologija, Človek in naravni viri, Biološke osnove zdravega življenja. Ljubljana: DZS.*

5 *Geister, I. (1977). Ptice okoli našega doma. Ljubljana: ČZP Kmečki glas.*

6 *Mihelič, T. (2010). »Detli.« Svet ptic 16 (1): 23–25. Dostopno na: http://www.ptice.si/projekti/svetptic/slike/Izobrazevanje/Detli/svet%20ptic%2001%202010%20detli.pdf (11. 3. 2013).*

7 *Müller, W. in Vrezec, A. (1998). Ptice Slovenije – mali priročnik. Ljubljana: DOPPS.*

8 *Singer, D. (2004). Kateri ptič je to? Ptiči Evrope. Kranj: Založba Narava.*

9 *Smole, J. (2011). »Gosi.« Svet ptic 17 (4): 27-29. Dostopno na: http://www.ptice.si/projekti/svetptic/slike/Izobrazevanje/DolocevalniKljuci/splet%20Gosi.pdf (11. 3. 2013).*

10 *Smole, J. (2006). »Race potapljavke v Sloveniji.« Svet ptic 12 (4): 6–10. Dostopno na: http://www.ptice.si/projekti/svetptic/slike/SP_PDF/SP_1204.pdf (11. 3. 2013).*

11 *Svensson, L. (2010). Collins Bird Guide. London: HarperCollins Publisher.*

12 *Štumberger, B. (2000). »Januarsko štetje vodnih ptic (IWC).« Svet ptic 6 (4): 11–12. Dostopno na: http://www.ptice.si/projekti/svetptic/slike/SP_PDF/SP_0604.pdf (11. 3. 2013).*

13 *Tome, D. (2006). Ekologija: organizmi v prostoru in času. Ljubljana: Tehniška založba.*

14 *Tome, D. & Vrezec, A. (2010). Evolucija, biotska pestrost in ekologija: Ekologija. Ljubljana: DZS.*

15 *Trilar, T. (2010). »Sinice.« Svet ptic 16 (4): 21-23. Dostopno na: http://www.ptice.si/projekti/svetptic/slike/Izobrazevanje/Sinice/svet%20ptic%2004%20december%20sinice%202010.pdf (11. 3. 2013).*

16 *Vičar, M. (ed.) et. al. (2011). Posodobitve pouka v gimnazijski praksi. Biologija. Ljubljana: Zavod RS za šolstvo.*

17 *Vukelič, E. (2009). »Opazovanje ptic ob krmilnici.« Svet ptic 15 (4): 54-55. Dostopno na: http://ptice.si/projekti/svetptic/index.php?idv=962 (11. 3. 2013).*

Delovni list 1

Ocenjevanje vrstne pestrosti ptic in naravovarstveno vrednotenje območij

Kabinetno delo

Ugotavljanje vrstne pestrosti ptic na krmilnici

Pred začetkom popisa ptic na krmilnici je priporočljivo, da se v priročniku za določanje ptic poučimo o vrstah, ki se pojavljajo na krmilnicah. Pri tem si pomagajte s seznamom vrst ptic (priloga 1), ki so bile opažene na krmilnicah po Sloveniji, čeprav so mogoča seveda tudi presenečenja. Za pomoč pri določanju ptic lahko pripravimo tudi slikovno prilogo, ki jo bodo uporabljali dijaki pri opazovanju.

S pomočjo takega popisa, ki mu pravimo tudi točkovni popis, lahko ugotovimo, koliko osebkov posamezne vrste obiskuje našo krmilnico. Da dobimo verodostojnejšo sliko o ptičji združbi, je popise bolje ponoviti večkrat. Dijaki lahko popisujejo ptice na krmilnicah tudi doma in potem popise primerjajo med seboj in ugotavljajo, ali je vrstna pestrost ptic na primer v mestu drugačna kot na obrobju mesta ali celo v vasi in ob gozdnem robu. Število vrst je namreč eno izmed meril biotske pestrosti. Pomembno pa je, da je metoda popisa enaka pri dijakih, ki rezultate primerjajo med seboj. Vrstno pestrost na krmilnicah je zanimivo primerjati tudi med različnimi obdobji leta ali pa v različnih vremenskih razmerah, na primer v nezasneženi in zasneženi krajini. Pri primerjavi različnih lokacij med seboj je nujno, da dijaki opravijo štetje sočasno, da se tako izognemo razlikam zaradi vremenskih in sezonskih razmer. Pri primerjavi različnih lokacij med seboj pa lahko na podlagi izkušenj pripravimo tudi hipotezo, v kakšnih okoljih pričakujemo višjo vrstno pestrost ptic.

Raznovrstnost plojkokljunov na jezerih in rekah

Pozimi je precej preprosto popisovati tudi prezimujoče vodne ptice na jezerih in rekah. Med njimi je mnogo vrst plojkokljunov (race, labodi, gosi), ponirkov, slapnikov, galebov, tukalic, kormoranov ipd. Zaradi enostavnosti določanja predlagamo, da se pri popisu omejimo le na plojkokljune zaradi lažje določljivosti. Najpogostejši vrsti plojkokljunov pri nas sta mlakarica *(Anas platyrhynchos)* in labod grbec *(Cygnus olor)*, za pripravo na štetje pa se je treba poučiti o vseh vrstah (za pomoč glej prilogo 2). Pri popisovanju priporočamo, da se zaradi enostavnosti določanja dijaki pri racah osredotočijo le na štetje samcev, ki so lahko določljivi, pri labodih in goseh pa štejejo vse osebke. Priporočljivo je za potrebe terenskega določanja pripraviti slikovno predlogo. S štetjem plojkokljunov lahko ocenjujemo tudi naravovarstveno vrednost območij, pri čemer nas lahko zanimata število in številčnost ogroženih vrst, torej vrst, katerih številčnost v Evropi upada, in delež tujerodnih vrst v združbi (podrobnejše informacije o vrstah so v prilogi 2). To so vrste, ki jih je v Evropo prinesel človek in včasih ogrožajo domačo biotsko pestrost. Delež tujerodnih vrst je zato pomemben podatek pri vrednotenju ogroženosti vodne avifavne. Na podlagi zbranih podatkov in vrednotenja glede na ogrožene in tujerodne vrste skušajte oceniti naravovarstveno vrednost popisanih območij (npr. višja vrednost, kjer je večja vrstna pestrost in kjer je več ogroženih in manj tujerodnih vrst) ter primerjajte vaše rezultate s trenutnim varstvenim statusom popisane vodne površine (npr. Natura 2000 območje, zavarovano območje ipd.).

Terensko delo

Ugotavljanje vrstne pestrosti ptic na krmilnici

Ptice, ki obiskujejo krmilnico, so plašne, zato je najbolje, da so krmilnice nameščene pred okno in ptice popisujemo od znotraj. Krmilnica mora biti postavljena najmanj dva tedna

pred izvedbo popisa, kjer ptice redno hranimo. Ptice lahko krmimo na različne načine, na primer s semeni, lojnimi pogačami, lojem, jabolki ipd. Pomembno je, da je način krmljenja na vseh mestih popisa vsaj v času popisa podoben! Dijaki naj ptice popisujejo individualno, najbolje pa je, da popis izvedejo sočasno, torej vsaj isti dan. Da pridobimo dovolj veliko količino podatkov, predlagamo večkratno izvedbo popisa. En popis naj traja 30 minut. V tem času preštejemo in v popisni obrazec vpišemo vse vrste ptic in število opaženih osebkov (priloga 3). Zaželeno je, da se ptice popisuje zjutraj, kajti tudi pozimi so najdejavnejše v jutranjem času. Priporočamo, da se popis ponovi trikrat. Podatke vseh treh popisov za potrebe analize združimo.

Raznovrstnost plojkokljunov na jezerih in rekah

S popisnim obrazcem (priloga 4), daljnogledom in določevalnim ključem se odpravimo na popis vodnih teles, rek ali jezer. Število plojkokljunov je navadno večje na stoječih vodah, zato si je nujno treba zapisati tip vodnega telesa (glej popisni obrazec v prilogi 4). Na jezerih poskušamo prešteti vse vodne ptice, ki jih vidimo, na tekočih vodnih telesih pa si izberemo neki odsek, ki ga bomo popisali.

Obdelava podatkov

Iz naših podatkov popisov lahko sklepamo o številu vrst, številčnosti vrst (torej število osebkov posamezne vrste), o dominanci (prevladujoče vrste v združbi) in o vrstni pestrosti ali diverziteti v naši popisani združbi.

1. **Število vrst** je preprosto seznam vrst, ki smo jih opazili.
2. **Številčnost vrst** navadno izražamo z gostoto. To lahko opišemo kot relativno gostoto, na primer, koliko osebkov neke ptičje vrste smo prešteli na določeni enoti napora popisa. S tem dosežemo vrednost, ki jo med vzorci lahko primerjamo. Pravzaprav tako med našimi vzorci oziroma popisi izenačimo napor popisa. Napor popisa je lahko čas, dolžina transekta, pregledana površina. Na krmilnicah smo opazovali trikrat po 30 minut. Številčnost vrst lahko preračunamo na 30 minut in dobimo relativno vrednost kot povprečno število opazovanih osebkov vrste v 30 minutah. V primeru te naloge predlagamo izračun številčnosti le pri opazovanju na krmilnicah, ne pa tudi pri vodnih pticah, zaradi težjega ocenjevanja napora. Rezultate vseh popisov lahko prikažemo v preglednici, ki jo uporabimo tudi za primerjavo (preglednica 1).

Preglednica 1: Primer skupne preglednice za primerjavo številčnosti ptic na krmilnici med tremi lokacijami. Prikazana sta število preštetih osebkov in relativna gostota (izračun glede na čas opazovanja je prikazan kot povprečno število opazovanih osebkov v 30 minutah). Na lokacijah A in B sta opazovalca opravila tri popise po 30 minut, na lokaciji C pa je opazovalcu uspelo opraviti le dva popisa.

Slovensko ime vrste	**Latinsko ime vrste**	**Lokacija A**		**Lokacija B**		**Lokacija C**	
		št. osebkov	**rel. gostota**	**št. osebkov**	**rel. gostota**	**št. osebkov**	**rel. gostota**
Skobec	*Accipiter nisus*	1	0,3	0	0,0	2	1,0
Turška grlica	*Streptopelia decaocto*	0	0,0	6	2,0	0	0,0
Veliki detel	*Dendrocopos major*	3	1,0	0	0,0	4	2,0
Taščica	*Erithacus rubecula*	2	0,7	4	1,3	8	4,0
Kos	*Turdus merula*	5	1,7	18	6,0	4	2,0
Velika sinica	*Parus major*	14	4,7	22	7,3	12	6,0
Menišček	*Periparus ater*	29	9,7	0	0,0	6	3,0
Plavček	*Cyanistes caeruleus*	0	0,0	12	4,0	12	6,0
Domači vrabec	*Passer domesticus*	0	0,0	76	25,3	6	3,0
Poljski vrabec	*Passer montanus*	0	0,0	3	1,0	29	14,5
Ščinkavec	*Fringilla coelebs*	66	22,0	0	0,0	16	8,0
Pinoža	*Fringilla montifringilla*	18	6,0	0	0,0	3	1,5
Zelenec	*Carduelis chloris*	112	37,3	9	3,0	44	22,0
Dlesk	*C. coccothraustes*	19	6,3	6	2,0	8	4,0
SKUPAJ		269	89,7	156	52,0	154	77,0
ŠTEVILO VRST		10		9		13	

3. Z **dominanco** ugotavljamo, katere vrste so v združbi prevladujoče in koliko jih je. To ugotovimo tako, da za vsako vrsto v združbi izračunamo njen delež osebkov glede na vse, ki smo jih prešteli:

   dominantnost = število osebkov vrste A * 100 %- /- število vseh osebkov vseh vrst.

   Pri tem opredelimo, katere vrste v združbi prevladujejo (vrste z več kot 5 % vseh osebkov) in katere vrste so v združbi maloštevilne oziroma redke (vrste z manj kot 2 % vseh osebkov). Zgradbo ekosistemov oziroma vrstni sestav združb lahko potem primerjamo med seboj glede na to, katere so prevladujoče oziroma dominantne vrste in koliko je teh vrst v združbi. Rezultate popisov lahko primerjamo v preglednici 2.

Preglednica 2: Primer preglednice za primerjavo dominance vrst na treh lokacijah (podatki se nanašajo na preglednico 1). Rezultati so prikazani v odstotkih.

Slovensko ime vrste	**Latinsko ime vrste**	**Lokacija A**	**Lokacija B**	**Lokacija C**
Skobec	*Accipiter nisus*	0,4	0,0	1,3
Turška grlica	*Streptopelia decaocto*	0,0	3,8	0,0
Veliki detel	*Dendrocopos major*	1,1	0,0	2,6
Taščica	*Erithacus rubecula*	0,7	2,6	5,2
Kos	*Turdus merula*	1,9	11,5	2,6
Velika sinica	*Parus major*	5,2	14,1	7,8
Menišček	*Periparus ater*	10,8	0,0	3,9
Plavček	*Cyanistes caeruleus*	0,0	7,7	7,8
Domači vrabec	*Passer domesticus*	0,0	48,7	3,9
Poljski vrabec	*Passer montanus*	0,0	1,9	18,8
Ščinkavec	*Fringilla coelebs*	24,5	0,0	10,4
Pinoža	*Fringilla montifringilla*	6,7	0,0	1,9
Zelenec	*Carduelis chloris*	41,6	5,8	28,6
Dlesk	*C. coccothraustes*	7,1	3,8	5,2
SKUPAJ		100,0	100,0	100,0

4. **Vrstno pestrost** ali diverziteto izražamo s tako imenovanim diverzitetnim indeksom, v katerem pri posamezni združbi upoštevamo tako število kot številčnost vrst. Najprej za vsako vrsto izračunamo njen delež v združbi kot:

   $P_i = n_i / N$

   (P_i – delež izbrane vrste i v združbi, ni – število osebkov izbrane vrste i, N – število osebkov vseh vrst v združbi)

   Nato za vsako vrsto izračunamo poseben indeks, ki je prispevek vrste k skupni diverziteti oziroma pestrosti v združbi, in te indekse seštejemo, da dobimo celokupno pestrost združbe:

   $H = - \sum (P_i \times log\ P_i)$

   (H – diverzitetni indeks, P_i - delež izbrane vrste i v združbi, višja je vrednost diverzitetnega indeksa (H), višja je vrstna pestrost združbe)

V našem primeru (preglednica 1) se je kot najbolj pestra izkazala združba iz lokacije C (H = 2,19), medtem ko je bila pestrost združb na lokacijah A in B približno enaka (lokacija A: H = 1,65; lokacija B: H = 1,66). Pri združbah vodnih ptic oziroma plojkokljunov lahko analiziramo še delež ogroženih in tujerodnih vrst v združbi, kar lahko primerjamo med združbami oziroma lokacijami.

Vprašanja za razpravo

1. Ali se lokacije oziroma združbe, ki smo jih preučevali, med seboj razlikujejo?
2. V kakšnih okoljih so bile združbe pestrejše? Zakaj?
3. Ali se v primeru popisa krmilnic pozna vpliv človeka na okolje?
4. Katera vodna telesa so se izkazala za bolj naravovarstveno pomembna in zakaj?
5. Ali bi preučevane združbe lahko vrednotili še kako drugače?
6. Kakšno bi moralo biti ravnanje ljudi, da bi ohranili biotsko pestrost oziroma da ta ne bi več upadala?

Priporočila za učitelje

Podobno lahko opazovanje izvedemo tudi na primeru kakšne druge živalske ali rastlinske skupine, pri kateri lahko zagotovimo določitev bolj ali manj vseh opazovanih osebkov. Na primer: vrstna pestrost dreves v gozdu (popisujemo na ploskvi ali v liniji oziroma transektu določene dolžine) ali vrstna pestrost dnevnih metuljev na travniku (popisujemo v transektu ali liniji določene dolžine) ali na cvetočem grmu (točkovni popis podobno kot na krmilnici; metulje ali kakšne druge žuželke je mogoče privabiti tudi z osladkano vodo). Na vodah se pojavljajo tudi druge vrste vodnih ptic, ki pa smo jih zaradi težavnosti določevanja izločili in se omejili le na plojkokljune. Kljub temu je mogoče razširiti temo na vse vodne ptice, vendar moramo potem za izračunavanje pestrosti združbe zagotoviti določitev vseh opaženih ptic.

Priloge

Priloga 1: Seznam ptic na krmilnicah v Sloveniji

Priloga 2: Seznam plojkokljunov Slovenije

Priloga 3: Popisni obrazec za popis ptic na krmilnicah

Priloga 4: Popisni obrazec za popis plojkokljunov

Priloga 1

Seznam vrst ptic, ki obiskujejo krmilnice v Sloveniji

Označena je tudi pogostnost pojavljanja na krmilnicah. Priložnostno lahko krmilnice obiskujejo tudi nekatere druge vrste ptic, ki pa jih zaradi izjemne redkosti pojavljanja na krmilnicah ne navajamo na seznamu. Katere vrste se bodo pojavljale na krmilnici, je odvisno od okolja in od letnega časa opazovanja, zato na vsaki krmilnici ne moremo pričakovati vseh spodaj naštetih vrst.

Vrsta	**Latinsko ime**	**Pogostnost na krmilnici**
Skobec	*Accipiter nisus*	pogost
Domači golob	*Columba livia domestica*	pogost
Grivar	*Columba palumbus*	redek
Turška grlica	*Streptopelia decaocto*	pogost
Zelena žolna	*Picus viridis*	redek
Pivka	*Picus canus*	pogost
Veliki detel	*Dendrocopos major*	pogost
Srednji detel	*Dendrocopos medius*	redek
Mali detel	*Dendrocopos minor*	redek
Bela pastirica	*Motacilla alba*	redek
Siva pevka	*Prunella modularis*	redek
Stržek	*Troglodytes troglodytes*	redek
Pegam	*Bombycilla garrulus*	redek
Taščica	*Erithacus rubecula*	pogost
Kos	*Turdus merula*	pogost
Cikovt	*Turdus philomelos*	redek
Carar	*Turdus viscivorus*	redek
Vinski drozg	*Turdus iliacus*	redek
Brinovka	*Turdus pilaris*	redek
Črnoglavka	*Sylvia atricapilla*	redek
Rumenoglavi kraljiček	*Regulus regulus*	redek
Rdečeglavi kraljiček	*Regulus ignicapilla*	redek
Velika sinica	*Parus major*	pogost
Menišček	*Periparus ater*	pogost
Plavček	*Cyanistes caeruleus*	pogost
Močvirska sinica	*Poecile palustris*	pogost

Vrsta	Latinsko ime	Pogostnost na krmilnici
Gorska sinica	*Poecile montanus*	redek
Čopasta sinica	*Lophophanes cristatus*	pogost
Dolgorepka	*Aegithalos caudatus*	pogost
Brglez	*Sitta europaea*	pogost
Kratkoprsti plezalček	*Certhia brachydactyla*	redek
Dolgoprsti plezalček	*Certhia familiaris*	redek
Domači vrabec	*Passer domesticus*	pogost
Poljski vrabec	*Passer montanus*	pogost
Ščinkavec	*Fringilla coelebs*	pogost
Pinoža	*Fringilla montifringilla*	pogost
Grilček	*Serinus serinus*	pogost
Lišček	*Carduelis carduelis*	pogost
Zelenec	*Carduelis chloris*	pogost
Čižek	*Carduelis spinus*	pogost
Brezovček	*Carduelis flammea/cabaret*	redek
Dlesk	*Coccothraustes coccothraustes*	pogost
Kalin	*Pyrrhula pyrrhula*	pogost
Krivokljun	*Loxia curvirostra*	redek
Rumeni strnad	*Emberiza citrinella*	pogost
Trstni strnad	*Emberiza schoeniclus*	redek
Škorec	*Sturnus vulgaris*	redek
Šoja	*Garrulus glandarius*	redek
Sraka	*Pica pica*	redek
Kavka	*Corvus monedula*	redek
Poljska vrana	*Corvus frugilegus*	redek
Siva vrana	*Corvus cornix*	redek

Priloga 2

Seznam vrst plojkokljunov, ki se pojavljajo v Sloveniji

Označena je tudi pogostnost pri nas, določevanje glede na spol (spol, ki ga je enostavno ločiti od drugih vrst in je primeren za štetje pri dijakih), ogroženost (status ogroženosti je določen glede na evropski status ogroženosti, ker gre pozimi za prezimovalke, ki k nam pridejo iz severnih krajev, kjer sicer gnezdijo) in tujerodnost.

Vrsta	Latinsko ime	Pogostnost	Določevanje	Ogroženost	Tujerodnost
Rumeni žvižgač	*Dendrocygna bicolor*	zelo redek	oba spola	ne	da
Labod grbec	*Cygnus olor*	zelo pogost	oba spola	ne	ne/da*
Mali labod	*Cygnus columbianus*	zelo redek	oba spola	da	ne
Labod pevec	*Cygnus cygnus*	zelo redek	oba spola	ne	ne
Črni labod	*Cygnus atratus*	redek	oba spola	ne	da
Njivska gos	*Anser fabalis*	redek	oba spola	ne	ne
Kratkokljuna gos	*Anser brachyrhynchus*	zelo redek	oba spola	ne	ne
Beločela gos	*Anser albifrons*	pogost	oba spola	ne	ne
Mala gos	*Anser erythropus*	zelo redek	oba spola	da	ne
Siva gos	*Anser anser*	pogost	oba spola	ne	ne
Tibetanska gos	*Anser indicus*	zelo redek	oba spola	ne	da
Belolična gos	*Branta leucopsis*	zelo redek	oba spola	ne	da
Kanadska gos	*Branta canadensis*	redek	oba spola	ne	da
Grivasta gos	*Branta bernicla*	zelo redek	oba spola	da	ne
Rdečevrata gos	*Branta ruficollis*	zelo redek	oba spola	da	ne
Nilska gos	*Alopochen aegyptiaca*	redek	oba spola	ne	da
Rjasta kozarka	*Tadorna ferruginea*	zelo redek	oba spola	da	ne
Duplinska kozarka	*Tadorna tadorna*	redek	oba spola	ne	ne
Grivasta raca	*Chenonetta jubata*	zelo redek	oba spola	ne	da
Moškatna bleščavka	*Cairina moschata*	pogost	oba spola	ne	da
Mandarinka	*Aix galericulata*	zelo pogost	samec	ne	da
Nevestica	*Aix sponsa*	pogost	samec	ne	da
Čipkasta raca	*Callonetta leucophrys*	redek	samec	ne	da
Žvižgavka	*Anas penelope*	pogost	samec	ne	ne
Čilska žvižgavka	*Anas sibilatrix*	zelo redek	samec	ne	da
Konopnica	*Anas strepera*	pogost	samec	ne	ne

Vrsta	Latinsko ime	Pogostnost	Določevanje	Ogroženost	Tujerodnost
Kreheljc	*Anas crecca*	zelo pogost	samec	ne	ne
Ameriški kreheljc	*Anas carolinensis*	zelo redek	samec	ne	ne
Formoški kreheljc	*Anas formosa*	zelo redek	samec	ne	da
Hotentotski kreheljc	*Anas hottentota*	zelo redek	samec	ne	da
Mlakarica	*Anas platyrhynchos*	zelo pogost	samec	ne	ne
Dolgorepa raca	*Anas acuta*	pogost	samec	da	ne
Reglja	*Anas querquedula*	pogost	samec	da	ne
Žličarica	*Anas clypeata*	pogost	samec	da	ne
Tatarska žvižgavka	*Netta rufina*	redek	samec	ne	ne
Sivka	*Aythya ferina*	zelo pogost	samec	da	ne
Kostanjevka	*Aythya nyroca*	redek	samec	da	ne
Čopasta črnica	*Aythya fuligula*	zelo pogost	samec	da	ne
Rjavka	*Aythya marila*	redek	samec	da	ne
Gaga	*Somateria mollissima*	redek	samec	ne	ne
Zimska raca	*Clangula hyemalis*	redek	oba spola	ne	ne
Črna raca	*Melanitta nigra*	redek	oba spola	ne	ne
Beloliska	*Melanitta fusca*	redek	oba spola	da	ne
Zvonec	*Bucephala clangula*	pogost	samec	ne	ne
Mali žagar	*Mergellus albellus*	pogost	samec	da	ne
Srednji žagar	*Mergus serrator*	pogost	samec	ne	ne
Veliki žagar	*Mergus merganser*	pogost	samec	ne	ne
Kapucasti žagar	*Lophodytes cucullatus*	zelo redek	samec	ne	da
Belolična trdorepka	*Oxyura jamaicensis*	zelo redek	samec	ne	da

* Večji del populacije laboda grbca (*Cygnus olor*) v Evropi sestavljajo potomci pobeglih parkovnih ptic iz ujetništva in le manjši del je dejansko ptic iz naravnih populacij. Zato je njegov tujerodni status mešan. Tujerodno namreč pomeni, da je pojavljanje vrste posledica človekovega vnosa in da ne gre za naravno pojavljanje.

Priloga 3

Popis vrstne pestrosti ptic na krmilnici

Ime in priimek	
Kraj opazovanja	
Datum	
Vreme	
Način krmljenja (semena, loj, jabolko ipd.)	
Habitat (naselje, mesto, gozdni rob ipd.)	
Ura (od do)	

n	**Vrsta ptice**	**Število ptic** *(s piko ali črtico zapišemo posamezen osebek)*	**Št. ptic skupaj** *(seštejemo pike)*	**Opombe**
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				
11				
12				
13				
14				
15				
16				
17				
18				
19				
20				
21				
22				
23				

Priloga 4

Popis vrstne pestrosti ptic na vodnih telesih

Ime in priimek	
Kraj opazovanja	
Datum	
Vreme	
Metoda popisa	
Habitat (jezero, reka, ribnik)	
Ura (od do)	

n	**Vrsta ptice**	**Število ptic** *(s piko ali črtico zapišemo posamezen osebek)*	**Št. ptic skupaj** *(seštejemo pike)*	**Opombe**
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				
11				
12				
13				
14				
15				
16				
17				
18				
19				
20				
21				
22				
23				

2.4.5 Ekosferna shramba

Dr. Al Vrezec, Nacionalni inštitut za biologijo, Prirodoslovni muzej Slovenije, Ljubljana
Petra Vrh Vrezec, DOPPS – BirdLife Slovenia, Ljubljana

Kratek povzetek

Človeška vrsta danes učinkovito izkorišča in si prisvaja veliko naravnih virov in s tem spreminja ekosisteme. Nekoč smo bili ljudje odvisni le od lokalnih, domačih virov, s tehnološkim razvojem družbe pa smo začeli izkoriščati tudi vire iz bolj oddaljenih krajev. Tako je družba prešla iz ekosistemske v ekosferno, kar se danes kaže kot biodiverzitetna kriza na Zemlji. Namen naloge je, da se dijaki s preprostim popisom virov, ki jih dobimo v najbližji trgovini, na praktičen način seznanijo z vidiki ekosfernega izkoriščanja. Tako razvijajo kritično razmišljanje, kako pomembna je samopreskrba s hrano, ki izhaja iz domačih ekosistemov, in kakšne posledice prinašata današnje globalno povezovanje in preskrbovanje z naravnimi dobrinami z vseh koncev sveta.

Čas za izvedbo dejavnosti

- ena ura kabinetnega dela v razredu (uvodna diskusija in priprava na praktično delo),
- dve uri popisovanja v trgovini (individualno delo),
- ena ura obdelave podatkov (individualno ali razredno delo),
- ena ura razprave o zbranih rezultatih in priprava pisnega izdelka.

Povezava z učnim načrtom

- A – Življenje na Zemlji (A1-1, A1-2)
- B – Raziskovanje in poskusi (B1)
- E – Evolucija (E3)
- G – Ekologija (G1, G2-5, G3, G4)
- K – Človek in naravni viri (K7, K20, K21, K23-28)
- L – Kako deluje znanost (L7-9,11,12)
- O – Ekologija, biotska pestrost in evolucija (O30, O35-37)

Medpredmetne povezave

- *matematika*: sklop statistika (interpretacija rezultatov),
- *geografija*

Uvod

Okoljski problemi so se dandanašnji čas preselili z lokalne na globalno raven. To se kaže kot biodiverzitetna kriza, kakor imenujemo novo množično izumiranje vrst na Zemlji. Množičnim izumiranjem je bil planet priča že petkrat v svoji geološki zgodovini, nazadnje pred 65 milijoni let, ko so izumrli dinozavri. Dejavniki, ki so povzročili množična izumiranja vrst, so bili zelo raznoliki, za biodiverzitetno krizo kot šesto množično izumiranje na Zemlji pa je krivo uničujoče širjenje ene vrste – človeka. Ljudje se težav pospešenega izumiranja vrst danes vse bolj zavedamo, na kar kažejo tudi mnoga mednarodna prizadevanja k ustavitvi propadanja biotske pestrosti. Razlogi za izumiranje vrst so v bistvu trije: (1) uničevanje naravnih ekosistemov in življenjskega prostora vrst zaradi čezmernega izkoriščanja naravnih dobrin brez možnosti samoobnavljanja, (2) globalne podnebne spremembe zaradi fizikalno-kemičnih sprememb ozračja ob povečanem izpustu toplogrednih plinov, zlasti ogljikovega dioksida, in (3) vnosi tujerodnih vrst, pri čemer gre za prenose vrst med ekosistemi, posledica pa je pogosto izginjanje domorodnih vrst.

Človeška vrsta danes učinkovito izkorišča in si prisvaja veliko naravnih virov. Pri izkoriščanju naravnih virov, kar seveda nista samo hrana in voda, ampak tudi energija ter surovine, pa ljudje spreminjamo ekosisteme. Nekoč smo bili ljudje odvisni predvsem od virov, ki smo jih dobili v okolju, v katerem smo živeli. To je bil t. i. ekosistemski človek, ki je bil odvisen od ekosistemov, ki so ga obkrožali. S tehnološkim razvojem človeške družbe pa so zlasti ljudje zahodne civilizacije spoznali, da si je mogoče še večje količine virov pridobiti iz bolj oddaljenih krajev. Torej iz ekosistemov, ki z našo populacijo nimajo kaj dosti skupnega. In tako je družba prešla iz ekosistemske v ekosferno, kar pomeni, da danes ne izkoriščamo le naših domačih ekosistemov, ampak ekosisteme po celotni Zemlji, ki jim pravimo ekosfera. Ko je bil človek še odvisen od domačih ekosistemov, jih je izkoriščal pazljivo oziroma trajnostno in s tem omogočil, da so se viri v ekosistemih lahko obnovili. Pravimo, da smo s tem izkoriščali t. i. ekosistemske storitve, ne da bi te storitve prizadeli do te mere, da bi jih uničili. Ekosistemske storitve, pod katerimi razumemo tako hrano, pitno vodo, zrak kot varovanje pred naravnimi nesrečami, kot je na primer prevelika erozija tal ali širjenje bolezni, pa so odvisne predvsem od živega sveta, ki naseljuje ekosisteme. Z netrajnostnim načinom izrabe, pri katerem si ljudje iz narave vzamemo več, kot bi smeli, ostane premalo virov za druge vrste, ki pospešeno izumirajo. Pri pospešenem izginjanju vrst iz ekosistemov prihaja do propadanja ekosistemov, kar ima lahko za posledico izumrtje tudi danes najuspešnejše vrste – človeka! Navsezadnje je človeška družba še vedno v celoti odvisna od ekosistemov in ekosistemskih storitev.

Ekosfera in s tem biodiverzitetna kriza pa sta zaradi svojih razsežnosti še vedno dokaj abstraktna in manj predstavljiva pojma, zaradi česar je zavedanje o tem svetovnem problemu in o nujnem prehodu družbe na trajnostni razvoj še vedno nizko. Namen naloge je, da se dijaki na praktičen način seznanijo z vidiki ekosfernega izkoriščanja na primeru lastne družbe. Pri tem naj prometno povezanost sveta gledajo iz več zornih kotov, torej izkoriščanja ekosistemov po celem planetu, povečanega vnosa dimnih izpuhov v ozračje zaradi prevoza in povečanega prenosa vrst med celinami zaradi nenamernega prenosa organizmov, skritih med surovinami, hrano ipd. Tako lahko poleg prednosti spoznajo tudi slabosti ekosfernega izkoriščanja naravnih virov, kar je izhodišče za diskusijo z dijaki o problemih biodiverzitetne krize in trajnostnega razvoja ter o tem, kakšna je družbena vloga vsakega posameznika pri tem. Naloga tako povezuje biološke teme z družbenimi, s čimer je

mogoče pokazati, da je človek del ekosistema in je z njim nerazdružljivo povezan. Cilj naloge je spodbuditi dijake, da začnejo kritično razmišljati, kako pomembna je samopreskrba s hrano, ki izhaja iz domačih ekosistemov, ki nas obkrožajo, ter kakšne posledice prinašata današnje globalno povezovanje in preskrbovanje z naravnimi dobrinami z vseh koncev sveta. To lahko dosežemo s preprostim popisom virov, ki jih dobimo v najbližji trgovini, pri čemer ugotavljamo, koliko domače hrane je še v prodaji ter iz katerih držav, celin ali podnebnih pasov dobimo največ naravnih virov. Torej, na spreminjanje katerih ekosistemov imamo slovenski kupci zaradi izkoriščanja vpliv in ali je biodiverzitetna kriza res nam oddaljen svetovni problem?

Material

- beležka,
- pisalo,
- računalnik (uporabi prosto dostopno spletno aplikacijo Google Earth za merjenje razdalj med kraji),
- zemljevid s podnebnimi pasovi.

Priporočena literatura in viri

1 *Devetak, B., Devetak, D., Tome, D., Vrezec, A., Belušič, G. in Žinko, B. (2011). Vedenje živali, Biotehnologija in mikrobiologija, Človek in naravni viri, Biološke osnove zdravega življenja. Ljubljana: DZS.*

2 *Gaberščik, A. (2008). »Ohranjanje ekosistemskih storitev – temelj našega preživetja«. V: Strgulc Krajšek, S. & Vičar, M. (ur.): Ekosistemi – povezanost živih sistemov, Mednarodni posvet Biološka znanost in družba, Ljubljana, 2.–3. oktober 2008, Zbornik prispevkov. Ljubljana: Zavod RS za šolstvo, str. 97–101.*

3 *Tome, D. (2006). Ekologija: organizmi v prostoru in času. Ljubljana: Tehniška založba.*

4 *Tome, D. in Vrezec, A. (2010). Evolucija, biotska pestrost in ekologija: Ekologija. Ljubljana: DZS.*

5 *Vrezec, A. (2011). »Invazijski proces tujerodnih vrst s primeri iz Slovenije«. V: Vičar, M. & Kregar, S. (ur.): Povezanost procesov, Mednarodni posvet Biološka znanost in družba, Ljubljana, 6.–7. oktober 2011, Zbornik prispevkov. Ljubljana: Zavod RS za šolstvo, str. 138–151.*

Delovni list 1

Ekosferna shramba

Kabinetno delo

Namen naloge je predvsem, da dijaki dobijo predstave o globalni povezanosti svetovne trgovine in o njenih bioloških posledicah. Zato priporočamo, da učitelj izvede v razredu uvodno razpravo z dijaki na teme, ki so predstavljene v uvodu. Ključno pri tem je, da skušajo dijaki družbenoekonomske vsebine, povezane z globalizacijo svetovne trgovine, obravnavati v biološki oziroma ekološki luči s temami o netrajnostnem izkoriščanju naravnih virov, onesnaževanju ozračja z izpusti toplogrednih plinov pri prevozu (t. i. ogljični odtis) in vnosih ter posledicah vnosov tujerodnih vrst. Pri tem lahko dijaki že sami naštejejo naravne dobrine, ki jih uporabljajo v vsakdanjem gospodinjstvu in za katere ni dvoma, da ne izvirajo iz domačih ekosistemov (npr. banane, ananas, čokolada, kava, guma ipd.). Naloga temelji na popisu izvora različnih živil v trgovini, kjer nas bo zanimalo, od kod in od kako daleč živila prihajajo. Raziskovalno vprašanje naloge lahko oblikujemo kot: Ali je slovenska družba ekosistemska ali ekosferna? Pri tem nas bo zanimalo: (1) katere ekosisteme slovenski kupec vsaj posredno izkorišča, (2) kakšna je ocena ogljičnega odtisa povprečnega vira, ki ga uporabljamo v prehrani (izrazimo lahko samo z razdaljo po analogiji, daljša je razdalja, večji je ogljični odtis ob prevozu) in (3) iz katerih delov sveta je vnos tujerodnih organizmov najbolj verjeten? Pri zadnjem vprašanju je seveda treba biti previden. Razumljivo je, da je pri konzerviranih, zmrznjenih ali kako drugače obdelanih živilih možnost prenosov tujerodnih vrst manjša kot pri neobdelani in surovi hrani, denimo sadju, zelenjavi, žitih ipd. Ti prenosi so seveda nenamerni, saj se različni tujerodni organizmi (npr. žuželke, pajki, stonoge, tudi plazilci) lahko pretihotapijo skupaj s transportiranimi živili. Tako je v Evropo namreč prišla cela kopica tujerodnih vrst, ki nam danes delajo tudi velike preglavice, na primer koloradski hrošč *(Leptinotarsa decemlineata)*, ki so ga iz Severne Amerike v Evropo nenamerno zanesli s krompirjem.

V razredu naj se dijaki razdelijo v več skupin, lahko pa nalogo izvajajo tudi individualno. Pri tem si skupine dijakov/dijaki razdelijo tipe živil, ki jih bodo popisovali v najbližjem supermarketu. Popisujemo le živila v izvirni pridelani obliki, in ne predelana živila, kot so kruh, mlevski izdelki, čokolada, bomboni ipd., saj proizvajalec, naveden na embalaži, navadno ni tudi pridelovalec. Predlagamo te skupine živil (seznam lahko seveda skrčite ali razširite):

- sveža zelenjava in sadje,
- konzervirana zelenjava in sadje,
- zmrznjena hrana (morska hrana, zelenjava, meso),
- žita, moka in sladkor,
- začimbe, olja in kis,
- mleko, mlečni izdelki in jajca,
- meso, izdelki iz mesa in ribe,
- hrana za male živali,
- pijača (predvsem vina).

Pripravite si preprost obrazec, v katerega boste vpisovali ime živila (1) in njegov izvor (2). Pri izvoru nas zanima, kje je bilo živilo pridelano, in ne, kje je bilo proizvedeno, kar velja za predelana živila!

Zbiranje podatkov

Izberite supermarket, v katerem boste popisovali. Najlažje je, da je trgovina res velika, z veliko izbiro živil, da boste lahko zbrali dovolj podatkov za poznejšo obdelavo. Dijaki naj sistematično pregledajo izvor izbranih živil in v obrazec vpisujejo podatke. Popisujemo sicer enaka živila različnih proizvajalcev, da bomo lahko pozneje ugotavljali, od kod vse dobimo neko živilo. Živila in izdelke, pri katerih ni nedvoumno jasno, kje so bila pridelana, izpustimo iz popisa.

Obdelava podatkov

Podatke uredite v tabeli, v katero vpisujete (1) **ime vira** (navedemo vrsto organizma, iz katerega je živilo; npr. koruzo *(Zea mays)* je mogoče kupiti kot svežo zelenjavo, kot konzervirana koruzna zrna, kot pokovko, kot koruzni zdrob, kot koruzno moko ali pa kot koruzna zrna za prehrano malih živali), (2) **ime živila,** (3) **ime države**, iz katere dobimo posamezno živilo, (4) **ime celine**, (5) **podnebni pas**, kjer je bila ta hrana pridelana (pas določite glede na pet podnebnih pasov na Zemlji: tropski, subtropski, zmerni, subpolarni in polarni pas), in (6) **razdaljo** med državo izvoznico in Slovenijo.

Razdaljo med državo izvoznico in Slovenijo najlažje ocenite s programom Google Earth, ki si ga lahko brezplačno naložite na računalnik. Izmerimo preprosto razdaljo med sredino države izvoznice in sredino Slovenije.

Nekaj navodil za merjenje v programu Google Earth:

1. V meniju izberite možnost »*Izberi ravnilo*«. Odpre se pogovorno okno »Ravnilo«.
2. V zavihku »*Pot*« izberite mersko enoto za dolžino, kilometri.
3. Z miško kliknite na sredino države izvoznice in nato kliknite še na sredino Slovenije.
4. Program vam samodejno izriše zračno pot in izračuna dolžino poti.
5. Če hrano pridelamo v Sloveniji, za razdaljo seveda napišemo število 0.

Zbrane podatke lahko obdelamo na različne načine, za nas najbolj bistveno pa je, da odgovorimo na v začetku zastavljena vprašanja. Ponovimo jih:

1. Ali je slovenska družba ekosistemska ali ekosferna in katere ekosisteme slovenski kupec vsaj posredno najbolj izkorišča?
2. Kakšno povprečno zračno razdaljo živila prepotujejo do slovenskega kupca in kakšna je s tem ocena ogljičnega odtisa zaradi prevoza posameznih živil?
3. Iz katerih delov sveta je vnos tujerodnih organizmov v Slovenijo z živili najbolj verjeten?

1. Ali je slovenska družba ekosistemska ali ekosferna in katere ekosisteme slovenski kupec vsaj posredno najbolj izkorišča?

Na vprašanje lahko odgovorimo v dveh korakih. V prvem preprosto primerjamo delež hrane domačega slovenskega izvora in delež hrane tujega izvora. Če je naša strategija samopreskrbovalna, bo delež hrane slovenskega izvora večji in družba je

bližje ekosistemski. Ogledamo si lahko tudi, katero hrano sploh proizvajamo v Sloveniji.

Drugi korak je, da si ogledamo, kako so živila glede na deleže razporejena po celinah. Če je slovenska družba ekosistemska, bodo prevladovala živila evropskega izvora (>50 odstotkov).

V tretjem koraku si lahko ogledamo delež pridelave živil glede na podnebne pasove. V ekosferni družbi namreč izkoriščajo naravne vire iz vseh podnebnih pasov. Ob tem skušajte iz znanja ekosistemske ekologije izluščiti, katere ekosisteme slovenska družba vsaj posredno najbolj izkorišča. V ta namen si lahko izdelate tudi karto sveta, na kateri označite države izvoznice hrane, ki jo lahko kupimo v Sloveniji.

2. Kakšno povprečno zračno razdaljo živila prepotujejo do slovenskega kupca in kakšna je s tem ocena ogljičnega odtisa zaradi prevoza posameznih živil?

Iz podatkov, urejenih glede na vir, npr. vrsto organizma, iz katerega pridobimo neko skupino živil, izračunamo povprečno razdaljo od države izvoznice do Slovenije za vsak vir. Tako lahko pripravimo lestvico živil, glede na razdaljo. Razdalja je tudi dobra posredna ocena za ogljični odtis živila zaradi prevoza. V razpravi lahko ugotavljamo, katera živila v slovenskih trgovinah so glede ogljičnega odtisa najbolj problematična, saj največ prispevajo k učinku toplogrednega segrevanja in s tem pojavu globalnih podnebnih sprememb.

3. Iz katerih delov sveta je vnos tujerodnih organizmov v Slovenijo z živili najbolj verjeten?

S prevozom živil se iz držav izvoznic v države uvoznice pretihotapijo tudi različni organizmi, ki v novem okolju postanejo tujerodne vrste. Seveda pa verjetnost nenamernega prenosa tovrstnih organizmov ni vedno enaka glede na tip živila. Na primer, verjetnost prenosa je pri zmrznjenih ali konzerviranih živilih minimalna ali je ni, pri svežih ali suhih pa je izjemno visoka. Iz vaših podatkov zato izberite le tista živila, pri katerih pričakujete, da je možnost prenosa živih tujerodnih organizmov visoka. Pozor! Vir tujerodnih organizmov so lahko tudi živila sama. Na primer živi potočni raki ali pa nekatera zelenjava (denimo topinambur ipd.) so lahko resna grožnja naši domorodni favni in flori. Iz tako urejenih podatkov izračunajte deleže živil glede na celine in podnebne pasove in s tem presodite, s katerih območij na svetu (celin, podnebnih pasov) pričakujete največ vnosov tujerodnih vrst. V razpravi z dijaki razmislite tudi o tem, s katerih območij na svetu pričakujete največ tujerodnih vrst, ki bi se pri nas utegnile ustaliti in širiti kot invazivne tujerodne vrste (gre torej za območja s podobnimi podnebnimi razmerami kot pri nas).

Vprašanja za diskusijo

1. Ali je slovenska družba ekosistemska ali ekosferna?
2. Kako je pomembna samopreskrba s hrano? Zakaj?
3. V katerem podnebnem pasu pridelajo največ hrane? Zakaj? Na internetu v »Google slike« poiščite zemljevid sveta, ki prikazuje, kolikšen je delež lakote na različnih celinah, v državah (vtipkajte »fame nel mondo«). Primerjajte, kolikšen je delež lakote v ekosistemih, kjer pridelajo največ hrane.
4. Kateri prehranski viri so lahko potencialni izvor tujerodnosti?
5. Zakaj se danes tako veliko govori o biodiverzitetni krizi in čemu je nastala?
6. Razmislite, kako tudi sami prispevamo k svetovnim problemom, kot so biodiverzitetna kriza, globalne podnebne spremembe, izkoriščanje tropskih pragozdov ipd. in kaj lahko kot posamezniki storimo, da se bo to spremenilo?

Priporočila za učitelje

Obseg naloge lahko učitelj poljubno prilagaja dijakom in programu, ki ga izvaja. Z določanjem vrst kot virov živil lahko dijaki dopolnjujejo tudi znanja sistematike in razvrščanja organizmov. Naloga je usmerjena v popisovanje živil, kar pa lahko razširimo tudi na druge vire. Možnost je razširiti nalogo tudi na trgovine z malimi živalmi, kjer lahko dijaki popišejo eksotične živali, ki so na prodaj. Večinoma gre za tujerodne vrste, ki lahko potencialno postanejo tudi invazivne v našem okolju, kar se je na primer tudi zgodilo z želvo rdečevratko (Trachemys scripta elegans). Vsekakor pa je pri tem treba več razmisleka, saj morajo dijaki predvideti možnosti pojavljanja in preživetja posameznih tujerodnih vrst v naravi. Vaja je lahko didaktično zanimiva tudi za seznanjanje s koncepti ekološke niše, strpnostne krivulje in nazadnje z medvrstnimi odnosi, s katerimi invazivna tujerodna vrsta izključuje domorodne vrste iz ekosistemov.

2.4.6 Prehranska niša semenojedih ptic – poskus na krmilnici

Petra Vrh Vrezec, DOPPS – BirdLife Slovenia, Ljubljana
Dr. Al Vrezec, Nacionalni inštitut za biologijo, Prirodoslovni muzej Slovenije, Ljubljana

Kratek povzetek

S spremljanjem hranjenja ptic z različnimi semeni na krmilnicah se lahko učenec seznani z medvrstnimi odnosi med pticami, ki so odvisni od podobnosti oziroma različnosti ekološke oziroma prehranske niše. Različne vrste ptic se hranijo z različnimi semeni, vendar pa se z nekaterimi vrstami semen hrani več vrst ptic. Ptice s podobno prehransko nišo med seboj bolj tekmujejo za hrano. S pomočjo pridobljenih podatkov pri opazovanju ptic na krmilnicah je mogoče izračunati širino ekološke niše, torej prepoznati generaliste (vrste ptic, ki se hranijo z različnimi vrstami semen) in specialiste (vrste, ki se hranijo le z eno vrsto semena) ter primerjati prehranske niše različnih vrst ptic. Poleg tega lahko učenci ugotavljajo, katera semena so pri pticah bolj priljubljena, in skušajo najti odgovore za značilen semenski izbor pri pticah.

Čas za izvedbo aktivnosti

- ena ura kabinetnega dela (priprava na terensko delo),
- vsaj tri ure opazovanja (na učenca),
- dve uri obdelave podatkov,
- ena ura razprave o zbranih rezultatih in priprava pisnega izdelka.

Povezava z učnim načrtom

- B – Raziskovanje in poskusi (B1)
- G – Ekologija (G1-3, G2-2, G3-1, G3-4)
- E – Evolucija (E3-6)
- J – Vedenje živali (J5)
- L – Kako deluje znanost (L8, L9)

Medpredmetne povezave

- *matematika*: sklop statistika (interpretacija rezultatov)

Uvod

Tekmovanje med vrstami narekuje podobnost njihovih ekoloških niš. Po teoriji vrste z bolj podobnimi nišami med seboj bolj tekmujejo, saj si delijo enake vire. To se pogosto dobro pokaže pri prehranskih nišah, pri čemer vrste tekmujejo za iste vire hrane. Ravno zaradi tega vrste, ki sobivajo, velikokrat spremenijo tudi svoje prehranske navade, da bi se izognile tekmovanju z močnejšimi tekmeci. Prehranske niše in tekmovanje med vrstami je enostavno spremljati na ptičjih krmilnicah, na katerih se v hladnem delu leta pojavljajo različne vrste ptic. Če jim ponudimo raznolika semena, lahko opazimo, da imajo nekatere vrste ptic raje eno vrsto semena, druge drugo. Prehranske niše se med različnimi vrstami ptic torej razlikujejo, a so lahko do te mere podobne, da začno ptice med seboj tekmovati za hrano, si ob tem groziti in se preganjati.

Naloga je namenjena predvsem praktičnemu spoznavanju koncepta ekoloških niš vrst in njegovemu povezovanju z medvrstnimi odnosi. Poleg tega je naloga zasnovana tako, da si učenci pridobijo izkušnje z raziskovalnim delom, torej z načrtovanjem raziskave, postavljanjem hipotez, zbiranjem, obdelavo in interpretacijo podatkov. Naloga je primernejša za skupinsko delo, lahko pa se izvaja tudi kot individualna naloga.

Material

Za izvedbo naloge potrebujemo naslednji material:

- ena ptičja krmilnica, lahko tudi več, če želimo izvajati opazovanja na več mestih in z večjim številom učencev;
- 3 različni tipi velikosti semen (izberemo vsaj dve vrsti semen vsakega tipa, skupaj torej 6 vrst semen). Pri izboru si pomagaj s preglednico 1. (Semena morajo biti neoluščena, torej s semensko lupino!);
- daljnogled,
- ura in štoparica,
- tehtnica (za natančno ocenjevanje mase uporabljenih semen in če izberemo semena, ki jih ni v preglednici 1),
- popisni obrazec,
- pisalo,
- priročnik za določanje ptic (lahko pripravimo svoj določevalni list),
- računalnik.

Preglednica 1: Izbor nekaterih semen, ki jih lahko ponudimo na krmilnici, masa posameznega semena v gramih in razdelitev v tri velikostne tipe.

Tip semena	Vrsta semena	Masa enega semena [v gramih]
Majhno seme	Solata	0,001
Majhno seme	Lucerna	0,002
Majhno seme	Zelje	0,004
Majhno seme	Gorčica	0,006
Majhno seme	Proso	0,007
Srednje seme	Pšenica	0,04
Srednje seme	Sončnica	0,06
Srednje seme	Žir	0,11
Srednje seme	Koruza	0,31
Veliko seme	Arašid	2,52
Veliko seme	Lešnik	2,92
Veliko seme	Želod	4,50
Veliko seme	Oreh	6,33

Priporočena literatura in viri

1 *Devetak, B., Devetak, D., Tome, D., Vrezec, A., Belušič, G. & Žinko, B. (2011). Vedenje živali, Biotehnologija in mikrobiologija, Človek in naravni viri, Biološke osnove zdravega življenja. Ljubljana: DZS.*

2 *Geister, I. (1980). Slovenske ptice. Ljubljana: Mladinska knjiga.*

3 *Geister, I. (1977). Ptice okoli našega doma. Ljubljana: ČZP Kmečki glas.*

4 *Müller, W. in Vrezec, A. (1998). Ptice Slovenije – mali priročnik. Ljubljana: DOPPS.*

5 *Ploger, J. B. in Yasukawa, K. (ur.) (2003). Exploring Animal Behaviour in Laboratory and Field. Salt lake City, UT: Academic Press.*

6 *Singer, D. (2004). Kateri ptič je to? Ptiči Evrope. Kranj: Založba Narava.*

7 *Svensson, L. (2009). Collins Bird Guide. London: HarperCollins Publisher.*

8 *Tome, D. (2006). Ekologija: organizmi v prostoru in času. Ljubljana: Tehniška založba.*

9 *Tome, D. in Vrezec, A. (2010). Evolucija, biotska pestrost in ekologija: Ekologija. Ljubljana: DZS.*

10 *Vukelič, E. (2009). »Opazovanje ptic ob krmilnici.« Svet ptic 15 (4): 54–55. Dostopno na: http://ptice.si/projekti/svetptic/index.php?idv=962 (11. 3. 2013).*

Delovni list 1

Prehranska niša semenojedih ptic – poskus na krmilnici

*V nalogi bomo opazovali hranjenje ptic na krmilnici, da bi ugotovili njihov izbor semen. Opazujemo lahko na eni krmilnici, kjer postavimo različna semena v različne dele krmilnice ali pa postavimo po več krmilnic nedaleč narazen, vsako z drugim tipom semena. Pri uporabi več krmilnic je bolje, če nalogo opravlja po več učencev, pri čemer naj en učenec nadzoruje največ dve krmilnici hkrati. Krmilnice, napolnjene s semeni, postavimo vsaj dva tedna pred začetkom izvedbe vaje. S tem zagotovimo, da se ptice navadijo na hranjenje na krmilnici vsaj en teden pred za*četkom *poskusa. Vse krmilnice naj bodo bolj ali manj enake in predvsem pregledne za opazovalca.*

Kabinetno delo

Z učenci pripravite seznam vrst ptic, ki obiskujejo krmilnico v vašem kraju v izbranem obdobju leta (najprimernejši je zimski čas). Pri tem se osredotočite le na semenojede ptice, ki so naš osrednji preučevani objekt. Pomagate si lahko tudi s seznamom semenojedih vrst ptic, ki jih je mogoče opazovati na krmilnicah po Sloveniji (priloga 1). S pomočjo literature v razpredelnico (preglednica 2) vpišite, kakšna semena, zlasti velikosti, izbrane vrste jedo. Na podlagi teh podatkov lahko učenci predvidijo, katere vrste ptic imajo bolj podobno prehrano in bodo torej pogosteje izbirale ista semena. To pomeni, da imajo te ptice podobne prehranske niše, zato je tekmovanje med njimi za hrano večje. Na podlagi tega lahko učenci pripravijo **prvo hipotezo**, po kateri pričakujejo, katere vrste ptic so si glede na prehransko nišo podobnejše.

Ob tem naj učenci razmislijo, katera semena so za posamezno ptico zanimivejša. Po teoriji (teorija optimalnega plenjenja) se bodo posamezne vrste ptic najraje prehranjevale s tistim tipom semena, kjer bo njihov energijski vložek glede na pridobljeno količino hrane najugodnejši. Ptice pri hranjenju izgubljajo energijo s pogostimi prileti. Ob priletih na krmilnico so tudi izpostavljene različnim plenilcem, na primer skobcu *(Accipiter nisus)*, ki pogosto pleni manjše ptice. Zato je za ptico ugodneje, če si nabere čim več hrane s čim manj prileti. To pa pomeni, da so zanje ugodnejša čim večja semena. Ob velikih semenih ptica trči še na eno oviro, kjer izgublja dodatno energijo. Večja semena je navadno težje odpreti kot manjša, za kar ptica porabi več časa. To lahko testirajo tudi učenci in poskusijo sami z rokami odpreti nekaj semen, opravilo pa lahko merimo s porabljenim časom, torej s časom, da učenec uspe popolnoma oluščiti in očistiti eno seme (za vsako vrsto semena poskus ponovite vsaj 10-krat, po možnosti vsakič z drugim učencem; preglednica 3). Naenkrat sme učenec luščiti le eno seme! Tako lahko ocenimo težavnost odpiranja posameznih semen, ki jih bomo uporabili, in oceno skušamo umestiti v našo hipotezo. Torej pričakujemo, da se bo neka ptica prehranjevala s čim večjimi semeni (masa semen), ki jih bo mogoče čim lažje odpreti (kratek čas odpiranja). Določimo, katero seme ima v tem smislu čim bolj ugodno razmerje. To določimo tako, da izračunamo, koliko časa bi potrebovali, da bi oluščili za 100 g hrane, torej semena. Tisti tip semena, ki ima najkrajši čas, je najugodnejši. Naša **druga hipoteza** je tako lahko, da se bodo ptice najpogosteje hranile z, energijsko gledano, najugodnejšim semenom (najkrajši čas odpiranja za 100 g hrane).

Pri tem ne smemo pozabiti, da sta obe hipotezi povezani. To pomeni, da se bodo prehranske niše večine ptic verjetno križale prav pri izboru, energijsko gledano, najugodnejšega semena, kjer pričakujemo tudi največje tekmovanje med vrstami. Zato predpostavljamo, da bodo prišle do izraza posebne lastnosti posameznih vrst, ki jih ločijo od drugih. Zato naj učenci v literaturi preučijo tudi morfološke značilnosti semenojedih ptic, zlasti obliko njihovih kljunov. Na primer, močan in masiven kljun dleska *(Coccothraustes coccothraustes)*

je primeren za odpiranje večjih in trdnejših semen, tanek kljun liščka *(Carduelis carduelis)* pa je kot pinceta za zbiranje drobnih semen. Ob tem lahko pri obdelavi podatkov učenci določijo tudi, katere vrste so večji prehranski generalisti (se prehranjujejo z različnimi semeni) in katere večji specialisti (se prehranjujejo le z manjšim naborom različnih semen).

Preglednica 1: Razpredelnica za pripravo teoretičnega pregleda prehranskih niš izbranih semenojedih ptic.

Slovensko ime ptice	Latinsko ime ptice	Semenska hrana	Druga nesemenska hrana

Preglednica 2: Razpredelnica za določanje energetske ugodnosti semen glede na maso in hitrost luščenja semen.

Tip semena	Vrsta semena	Število semen	Povprečna masa semena [g]	Povprečen čas za luščenje enega semena [s]	Ugodnost semena (čas za luščenje 100 g semen)

Terensko delo

Pred začetkom opazovanja krmilnic je treba učence pripraviti na terensko delo do te mere, da ne bodo imeli težav pri določanju ptic (za pomoč glej prilogo 1) in pri vpisovanju v popisni obrazec (priloga 2). Učenci naj se predtem v priročniku seznanijo z vsemi pticami, ki jih pričakujete. Poleg tega pripravite slikovno predlogo z vsemi pričakovanimi pticami, ki naj jo imajo učenci pri opazovanju krmilnic. Za izvedbo poskusa uporabite popisni obrazec (priloga 2), na katerem se zapisujejo vrsta prehranjujoče ptice in tip semena, ki ga ptica izbere med popisom, ter seveda drugi podatki, ki so potrebni za testiranje hipotez. Skupaj z učenci preglejte popisni obrazec, preden začnete opazovati, in ga po razpravi lahko tudi dopolnite!

1. Priprava poskusa

Za izvedbo naloge lahko uporabite eno ali več krmilnic. Pomembno je, da so semena v krmilnici jasno ločena ali celo, da ima vsaka krmilnica le en tip semena. S tem

bodo lahko učenci določili, s katerim semenom se je ptica prehranjevala in koliko jih je zaužila. Pred poskusom krmilnice očistimo in odstranimo vsa semena, ki so ostala v krmilnici od prejšnjih hranjenj (po možnosti tudi s tal). V krmilnico damo po 100 g vsakega tipa semen.

2. Zbiranje podatkov

Najugodnejši čas za izvajanje poskusa, so jutranje ure, ko so ptice najbolj dejavne. Priporočamo, da učenci opazujejo dogajanje na krmilnici vsaj tri ure, ki pa jih lahko opravijo ob različnih dnevih, vendar naj opazovanje poteka najmanj eno uro sklenjeno. Če enega tipa semen pri tem zmanjka, naj nadaljujejo opazovanje, saj to pomeni, da se bodo morale nekatere vrste preusmeriti na drugi tip semen. Najugodneje je, če vsako krmilnico oziroma kupček tipa semena spremlja po en ali dva učenca. Pri vsakem obisku krmilnice naj si učenci zapišejo vrsto ptice, ki je obiskala krmilnico, in kateri tip semena je izbrala ter koliko (glej obrazec v prilogi 2). Učenci naj opišejo tudi vedenje ptice na krmilnici o tem, ali je vrsta strpna do iste vrste/druge vrste ptice (katere?) ali je do nje agresivna (ji grozi z odprtim kljunom, jo preganja ipd.). Podatki se vpisujejo v obrazec za vsak osebek posebej. Nekatere vrste ptic, denimo velike sinice *(Parus major)*, seme poberejo in odnesejo, druge, kot je zelenec *(Carduelis chloris)*, pa čepijo v krmilnici in jedo seme za semenom. Pri zadnjih sta potrebni hitro štetje in opazovanje, zato sta za takšne vrste potrebna vsaj dva opazovalca na tip semena, da je mogoče spremljati po več osebkov hkrati. Pozor! Krmilnico lahko obiščejo tudi nekatere druge semenojede živali, zlasti veverica *(Sciurus vulgaris)*. Ker gre ravno tako za vrsto, ki na krmilnici tekmuje s pticami za hrano, jo lahko prav tako vključimo v naš popis.

Obdelava podatkov

1. Opis prehranske niše

Prvi korak pri obdelavi podatkov je pregled prehranske niše vseh vrst ptic, ki smo jih opazovali. Za vsako vrsto pripravimo preprosto preglednico, v kateri prikažemo, s katerimi semeni se je izbrana vrsta ptice prehranjevala in koliko jih je pojedla. Pri tem izračunamo deleže (%) požrtih semen po številu in biomasi (glej preglednico 4 za primer). Primer iz preglednice 4 nam kaže, da se je ptica več prehranjevala z majhnimi prosenimi semeni, vendar so po biomasi dejansko največji del prehrane predstavljala sončnična semena.

Preglednica 4: Primer prikaza prehranske niše izbrane vrste ptice glede na prehranjevanje s semeni.

Tip semena	Vrsta semena	Št. požrtih semen	% števila semen	Masa semena [g]	Biomasa požrtih semen [g]	% biomase semen
Majhno	Solata	93	12,3	0,001	0,093	0,6
Majhno	Proso	456	60,3	0,007	3,192	20,0
Srednje	Sončnica	206	27,2	0,06	12,360	77,5
Srednje	Koruza	1	0,1	0,31	0,310	1,9
Veliko	Želod	0	0,0	4,50	0,000	0,0
Veliko	Oreh	0	0,0	6,33	0,000	0,0
SKUPAJ		756			15,955	

2. Širina prehranske niše

S to mero ugotavljamo, katere vrste so bolj specialisti in katere bolj generalisti. Širino prehranjevalne niše lahko izračunamo s tako imenovanim diverzitetnim indeksom, v katerem pri posamezni ptici upoštevamo število požrtih semen. Najprej za vsako vrsto semena izračunamo njen delež v prehrani kot:

$P_i = n_i / N$

(P_i – delež semen izbrane vrste i, n_i – število semen vrste i, N – število vseh semen vseh vrst, ki jih je ptica pojedla)

Nato za vsako vrsto ptice izračunamo diverzitetni indeks:

$H = - \sum (P_i \times log\ P_i)$

(H – diverzitetni indeks, P_i - delež semen vrste i)

Višja je vrednost diverzitetnega indeksa (H), večja je širina prehranske niše posamezne ptice. Večja širina niše nam pove, da je ptica generalist – torej se prehranjuje z različnimi vrstami semen in ni pretirano izbirčna, manjšo širino prehranjevalne niše pa imajo specialisti. To so vrste, ki se hranijo z omejenim naborom semen.

Za primer vrste ptice v preglednici 4 bi širina prehranske niše znašala H = 0,926.

3. Primerjava prehranskih niš

Pri naši prvi hipotezi smo predvidevali, da imajo nekatere vrste podobnejšo prehransko nišo. To lahko zdaj preverimo tudi s kvantitativno primerjavo prehranskih niš s pomočjo **podobnostnega indeksa**:

$S = (2 \times a) / ((2 \times a) + b + c)$

(S – podobnostni indeks, a – skupno število vseh vrst semen, ki sta jih pojedli ptici A in B, b – število vrst semen, ki so jih pojedle le ptice vrste A, c - število vrst semen, ki so jih pojedle le ptice vrste B)

Podobnostni indeks izračunamo za vse pare opazovanih vrst ptic. Par z najvišjim indeksom ima najbolj podobno prehransko nišo, s čimer lahko preverimo našo prvo hipotezo.

Primer:

Podobnost prehranskih niš treh vrst ptic (preglednica 5) kaže na največjo podobnost oziroma prekrivanje niš med vrstama A in C, najmanjšo pa med vrstama B in C (preglednica 6). Vrsti A in C imata zelo podobno prehransko nišo, vrsta B pa se od njiju zelo razlikuje. Zaradi tega pričakujemo, da bosta vrsti A in C tudi najbolj tekmovali, zato se bosta verjetno druga do druge vedli bolj agresivno. Preverite to s podatki o agresivnosti do drugih ptic, ki bi morala sicer biti večja do istovrstnih kot do drugovrstnih ptic. Ista vrsta ptice namreč zaradi identično enake niše predstavlja ptici največjega tekmeca.

Preglednica 5: Primer prehrane treh vrst ptic (navedena so le števila požrtih semen).

Tip semena	Vrsta semena	Ptica A	Ptica B	Ptica C
Majhno	Solata	93	0	568
Majhno	Proso	456	0	402
Srednje	Sončnica	206	87	112

Tip semena	Vrsta semena	Ptica A	Ptica B	Ptica C
Srednje	Koruza	1	58	0
Veliko	Želod	0	12	0
Veliko	Oreh	0	10	0
SKUPAJ		756	167	1082

Preglednica 6: Podobnost prehranskih niš treh vrst ptic (preglednica 5), izračunana s podobnostnim indeksom.

	Ptica A	Ptica B	Ptica C
Ptica A		0,76	0,99
Ptica B			0,70
Ptica C			

4. Najugodnejše seme za ptice

Pri naši drugi hipotezi smo na podlagi časa, potrebnega za luščenje semena, in mase semena ocenili, katero seme bi utegnilo biti za ptice najugodnejše. Navadno je najugodnejši plen plenilcev tisti, ki ga plenijo v največjem številu, zato mu pravimo tudi glavni plen. Iz tabel s pregledom prehranskih niš različnih vrst ptic, lahko za vsako vrsto določimo, katero seme so ptice plenile v največjem številu in v največji biomasi. Splošno najugodnejše seme za združbo ptic je tisto, ki ga ima največji delež vrst ptic za svoj glavni plen po številu in biomasi. Ugotovitev lahko primerjamo z našo hipotezo in preverimo, koliko drži. Odstopanja lahko poskušamo razložiti z vplivom tekmovanja med vrstami in drugimi dejavniki, npr. da je neko seme za nekatere vrste preprosto preveliko.

Vprašanja za diskusijo

1. Ali se prehranjevalne niše različnih vrst ptic razlikujejo med seboj?
2. Ali so ptice z bolj podobnimi prehranskimi nišami druga do druge bolj agresivne kot do drugih vrst? Zakaj?
3. Zakaj najugodnejšega semena vse ptice niso jemale v enakem deležu?

Sklep

Vajo lahko tudi nadgradimo. Učenci lahko dogajanje na krmilnici tudi snemajo in pozneje analizirajo videoposnetke.

Prilogi

Priloga 1: Seznam semenojedih vrst ptic na krmilnici

Priloga 2: Popisni obrazec

Priloga 1

Seznam semenojedih vrst ptic, ki obiskujejo krmilnice v Sloveniji

Označena je tudi pogostnost pojavljanja na krmilnicah. Krmilnice obiskujejo tudi nekatere druge vrste ptic, na primer kos (*Turdus merula*) in taščica (*Erithacus rubecula*), ki pa niso semenojede, zato so s seznama izpuščene. Priložnostno lahko krmilnice obiskujejo tudi nekatere druge semenojede vrste ptic, ki pa jih zaradi izjemne redkosti pojavljanja na krmilnicah ne navajamo na seznamu. Katere vrste se bodo pojavljale na krmilnici, je odvisno od okolja in od letnega časa opazovanja, zato na vsaki krmilnici ne moremo pričakovati vseh spodaj naštetih vrst.

Vrsta	**Latinsko ime**	**Pogostnost na krmilnici**
Domači golob	*Columba livia domestica*	pogost
Grivar	*Columba palumbus*	redek
Turška grlica	*Streptopelia decaocto*	pogost
Zelena žolna	*Picus viridis*	redek
Pivka	*Picus canus*	pogost
Veliki detel	*Dendrocopos major*	pogost
Srednji detel	*Dendrocopos medius*	redek
Mali detel	*Dendrocopos minor*	redek
Bela pastirica	*Motacilla alba*	redek
Siva pevka	*Prunella modularis*	redek
Cikovt	*Turdus philomelos*	redek
Velika sinica	*Parus major*	pogost
Menišček	*Periparus ater*	pogost
Plavček	*Cyanistes caeruleus*	pogost
Močvirska sinica	*Poecile palustris*	pogost
Gorska sinica	*Poecile montanus*	redek
Čopasta sinica	*Lophophanes cristatus*	pogost
Dolgorepka	*Aegithalos caudatus*	pogost
Brglez	*Sitta europaea*	pogost
Domači vrabec	*Passer domesticus*	pogost
Poljski vrabec	*Passer montanus*	pogost
Ščinkavec	*Fringilla coelebs*	pogost
Pinoža	*Fringilla montifringilla*	pogost
Grilček	*Serinus serinus*	pogost

Vrsta	Latinsko ime	Pogostnost na krmilnici
Liščeк	*Carduelis carduelis*	pogost
Zelenec	*Carduelis chloris*	pogost
Čižek	*Carduelis spinus*	pogost
Brezovček	*Carduelis flammea/cabaret*	redek
Dlesk	*Coccothraustes coccothraustes*	pogost
Kalin	*Pyrrhula pyrrhula*	redek
Krivokljun	*Loxia curvirostra*	redek
Rumeni strnad	*Emberiza citrinella*	pogost
Trstni strnad	*Emberiza schoeniclus*	redek
Škorec	*Sturnus vulgaris*	redek
Šoja	*Garrulus glandarius*	redek
Sraka	*Pica pica*	redek
Kavka	*Corvus monedula*	redek
Poljska vrana	*Corvus frugilegus*	redek
Siva vrana	*Corvus cornix*	redek

Priloga 2

Popis prehranjevanja ptic

Ime in priimek	
Kraj opazovanja	
Datum	
Čas opazovanja (od do)	

n	**Vrsta ptice**	**Tip semena** *(ki ga je ptica vzela)*	**Število semen** *(ki jih je ptica vzela)*	**Osebek agresiven** *(do katere vrste)*	**Osebek ni agresiven** *(do katere vrste)*
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					
11					
12					
13					
14					
15					
16					
17					
18					
19					
20					
21					
22					
23					
24					
25					
26					

2.5 Evolucija

2.5.1 Od gena do naravnega izbora: raziskovanje populacij skalne žepne miši

Dr. Barbara Vilhar, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo

Povzetek

Gradivo obsega delovne liste za teoretično vajo s širšega vsebinskega področja evolucije. Vaja temelji na podatkih iz resnične znanstvene raziskave o naravnem izboru v naravnih populacijah (problemsko naravnano učenje). Opisuje populacije skalne žepne miši (Chaetodipus intermedius), ki živijo v severnoameriški puščavi. V populacijah na območjih s svetlimi kamninami prevladujejo osebki s svetlo dlako, v populacijah na temnih kamninah pa osebki s temno dlako. Temni osebki na svetli podlagi in svetli osebki na temni podlagi so opaznejši za plenilce kot osebki, katerih barva se sklada z barvo podlage. Barva dlake je dedna, pri čemer so znanstveniki določili zaporedje nukleotidov v dveh alelih gena Mc1r, ki določata barvo dlake. Znana je tudi funkcija beljakovine MC1R, ki je produkt tega gena (membranski receptor, sklopljen z G-proteinom). Gre torej za primer naravnega izbora v naravnih populacijah, pri katerem so znanstveniki raziskali mehanizme od ravni molekul (zaporedje nukleotidov v genu; lokacija aminokislin, spremenjenih zaradi mutacij, v beljakovini) do ravni populacij v ekosistemih. Vaja tako povezuje spremenjeno zaporedje nukleotidov v beljakovini, ki je posledica mutacij v genu, z lahko predstavljivo fenotipsko lastnostjo – barvo dlake. Podatki iz znanstvene raziskave vključujejo tako terensko delo kot laboratorijske raziskave, dijaki pa imajo tudi priložnost, da si ogledajo znanstveni članek.

Povezava z učnim načrtom

Med izvedbo vaje dijaki okvirno sledijo poteku znanstvenega dela in načinu razmišljanja znanstvenikov. Vaja vsebuje več delov, ki obsegajo vse ravni organizacije živega (molekula, celica, organizem, populacija, ekosistem) in različna vsebinska področja biologije. Učitelj tako lahko v pouk postopno vključuje posamezne dele vaje v več letnikih gimnazije. Od nižjih do višjih ravni organizacije živega vaja obravnava naslednje širše vsebinske sklope:

- Zgradba in delovanje celice (vsebinski sklop C): povezava med zgradbo in delovanjem beljakovin (zaporedje aminokislin, tridimenzionalna oblika beljakovine); delovanje membranskih beljakovin;
- Zgradba in delovanje organizmov (F), Biologija celice (M): sporočilne molekule in transdukcija signalov v celici (membranski receptorji, sklopljeni z G-proteinom);
- Geni in dedovanje (D): gen kot zapis za zgradbo beljakovine; točkovne mutacije lahko spremenijo aminokisline v beljakovini (genetski kod); povezava med fenotipom in genotipom (dominantno-recesivno izražanje alelov);

- Ekologija (G): medvrstni odnosi (plen – plenilec);
- Evolucija (E), Ekologija, biotska pestrost in evolucija (O): naravni izbor spreminja pogostost alelov v populaciji skozi generacije (populacijska genetika; pogostost fenotipov, genotipov in alelov);
- Raziskovanje in poskusi (B), Kako deluje znanost (L): postopek znanstvenega raziskovanja, zaključki na temelju podatkov iz narave, objavljanje rezultatov znanstvenih raziskav.

Vključitev vaje v pouk

Ker vaja obravnava vsa glavna vsebinska področja predmeta biologija, lahko različne vidike naravnega izbora v populacijah skalne žepne miši učitelj postopno vključuje v pouk kot rdečo nit, ki povezuje vsebinska področja. Tako lahko pri obravnavanju primarne, sekundarne in terciarne zgradbe beljakovin uporabi beljakovino MC1R kot primer membranske beljakovine, ki vsebuje α-vijačnice. Nadalje lahko pri obravnavanju povezave med geni in beljakovinami (genetski kod) in posledic točkovnih mutacij kot primer uporabi mutacije v genu *Mc1r*. Dedovanje barve dlake pri skalni žepni miši lahko uporabi kot primer dominantno-recesivnega dedovanja (z znanim okvirnim molekulskim mehanizmom). Naravni izbor v populacijah skalnih žepnih miši pa lahko uporabi kot primer spreminjanja pogostosti alelov ter za razlago o povezavi med pogostostjo fenotipov, genotipov in alelov. Možnosti za vključevanje primera skalnih žepnih miši v obravnavo različnih vsebinskih sklopov je še več.

Učitelj lahko presodi, kako bo primer skalnih žepnih miši vključil v pouk. Nekatere vidike lahko vključi v svojo razlago kot zgodbo za popestritev pouka, dijakom lahko pokaže delne rezultate raziskave in spodbudi razpravo o zaključkih, ki jih lahko naredimo na temelju teh rezultatov, del nalog lahko uporabi kot vajo med šolsko uro ali za domačo nalogo, del nalog lahko vključi v preverjanje znanja. Naloge so primerne tudi za ponavljanje in poglabljanje znanja ob pripravah na maturo. Ob smiselnem vključevanju različnih vidikov primera skalnih žepnih miši v pouk lahko dijaki ob koncu biološkega izobraževanja zgradijo celovito razumevanje tega primera iz narave, ki vključuje tako povezave med različnimi biološkimi koncepti kot tudi med različnimi ravnmi organizacije živega.

Naloge v pričujočem gradivu delno temeljijo na gradivih za učitelje in učence, objavljenih na spletni strani *The Making of the Fittest: Natural Selection and Adaptation* (Howard Huges Medical Institute; *http://www.hhmi.org/biointeractive/activities/pocketmouse.html*). Ta gradiva so v angleškem jeziku in jih lahko uporabijo učitelji, ki poučujejo v programu mednarodne mature. V tem gradivu je večji poudarek na obravnavanju podatkov iz dejanske znanstvene raziskave in postopnem povezovanju različnih bioloških konceptov v celovito razumevanje primera naravnega izbora v naravnih populacijah.

Medpredmetne povezave

Vaja se povezuje predvsem s predmetom *matematika* (računanje, grafi, verjetnost, matematični modeli). Delno se povezuje s predmetoma *kemija* (lastnosti aminokislin – polarnost, naboj) in *geografija* (kamnine, vulkansko delovanje, severnoameriške puščave). Vaja se lahko povezuje tudi s poukom *angleščine* (na primer

razumevanje oz. prevod angleškega besedila kratkega poljudnoznanstvenega filma *The Making of the Fittest: Natural Selection and Adaptation*).

Gradiva za dijake in učitelje

Neizpolnjeni delovni listi za dijake v formatu MS Word in pdf so objavljeni na naslednjih spletnih straneh:

- spletna učilnica Zavoda RS za šolstvo (dostop z geslom za učitelje): *http://skupnost.sio.si/course/view.php?id=31,*
- spletne strani Oddelka za biologijo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani (javni dostop): *http://web.bf.uni-lj.si/bi/gradiva/skalna-mis/.*

Z delovnih listov v formatu MS Word lahko učitelj postopno vključuje v pouk posamezne naloge. Če učitelj uporabi le del delovnih listov, kot vir nalog na prirejenih delovnih listih navede:

- Vilhar, B. (2013). »Od gena do naravnega izbora: raziskovanje populacij skalne žepne miši«. V: Izzivi razvijanja in vrednotenja znanja v gimnazijski praksi – Biologija, Kregar, S. in Vičar, M. (ur.) Ljubljana: Zavod RS za šolstvo, str. 454-494.

Gradiva za učitelje, ki vključujejo splošna priporočila in rešitve nalog s komentarji, so objavljena v tem priročniku, v barvni verziji pa tudi na spletni strani:

- spletna učilnica Zavoda RS za šolstvo (dostop z geslom za učitelje): *http://skupnost.sio.si/course/view.php?id=31.*

Datoteka, ki prikazuje učinke naravnega izbora v populacijah skalnih žepnih miši na svetlih in temnih kamninah (format MS Excel) je objavljena na naslednjih spletnih straneh:

- spletna učilnica Zavoda RS za šolstvo (dostop z geslom za učitelje): *http://skupnost.sio.si/course/view.php?id=31,*
- spletne strani Oddelka za biologijo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani (javni dostop): *http://web.bf.uni-lj.si/bi/gradiva/skalna-mis/.*

Večina nalog temelji na podatkih iz naslednjega **znanstvenega članka**, ki je javno dostopen na spletu:

- Nachman, M.W., Hoekstra, H.E., D'Agostino, S.L. (2003). The genetic basis of adaptive melanism in pocket mice. *Proc. Nat. Acad. Sci.* USA 100: 5268-5273 *(http://www.pnas.org/content/100/9/5268.abstract)*.

Kratek poljudnoznanstveni film o skalnih žepnih miših z naslovom *The Making of the Fittest: Natural Selection and Adaptation* (Howard Huges Medical Institute) je javno dostopen na spletni strani *http://www.hhmi.org/biointeractive/shortfilms/index.html#pocketmouse*. Film je v angleščini; prepis besedila filma je dostopen na spletni strani *http://www.hhmi.org/biointeractive/dvd/transcripts/The Making of the Fittest - Natural Selection & Adaptation (Pocket Mouse) Printable Transcript.pdf.*

Animacija, ki prikazuje učinke naravnega izbora v populacijah skalnih žepnih miši na svetlih in temnih kamninah (Learn Genetics, University of Utah: Rock Pocket Mice), je javno dostopna na spletnem naslovu *http://learn.genetics.utah.edu/content/variation/comparative/*.

Priloge

Priloga 1: Uvod v delovne liste

Faza 1: Pregled predhodnih znanstvenih ugotovitev

Faza 2: Ugotavljanje pogostosti fenotipov v populacijah skalne žepne miši

Faza 3: Ugotavljanje povezave med barvo dlake in geni

Faza 4: Učinek naravnega izbora

Faza 5: Primerjava alelov gena *Mc1r*

Faza 5: Primerjava alelov gena *Mc1r*

Faza 6: Objava rezultatov raziskave

Faza 7: Nadaljevanje raziskav in nova vprašanja

Kako deluje znanost

Priloga 1

Uvod v delovne liste

Delovni listi s komentarji za učitelje

Spodnja gradiva sestavljajo besedilo in naloge z delovnih listov za dijake. Predvidene rešitve in komentarji za učitelje so v ležeči pisavi. Rešitve nekaterih nalog zahtevajo uporabo več barv. Barvna verzija teh gradiv je objavljena v spletni učilnici Zavoda RS za šolstvo. Učitelj naj spodnja gradiva bere skupaj z neizpolnjenimi delovni listi za dijake.

Namen vaje

- spoznavanje poteka znanstvenega dela ob uporabi podatkov iz resnične znanstvene raziskave,
- ugotavljanje fenotipskih in genotipskih lastnosti populacij v različnih okoljih,
- ugotavljanje povezav med fenotipskimi lastnostmi, geni in beljakovinami,
- oblikovanje zaključkov o delovanju naravnega izbora na temelju kritične presoje znanstvenih dokazov.

Opis vaje

V vaji bomo uporabili podatke iz več znanstvenih člankov, ki jih je od leta 2003 do leta 2005 objavila ameriška raziskovalna skupina pod vodstvom dr. Michaela Nachmana. V člankih so znanstveniki opisali, kako so raziskovali fenotipske in genotipske lastnosti populacij skalne žepne miši – majhnega glodavca, ki živi v puščavah na jugozahodu ZDA in v Mehiki.

Vaja obsega več faz. Njihovo zaporedje okvirno ustreza zaporedju postopkov, ki so jih opravili znanstveniki med raziskavo.

Potrebščine

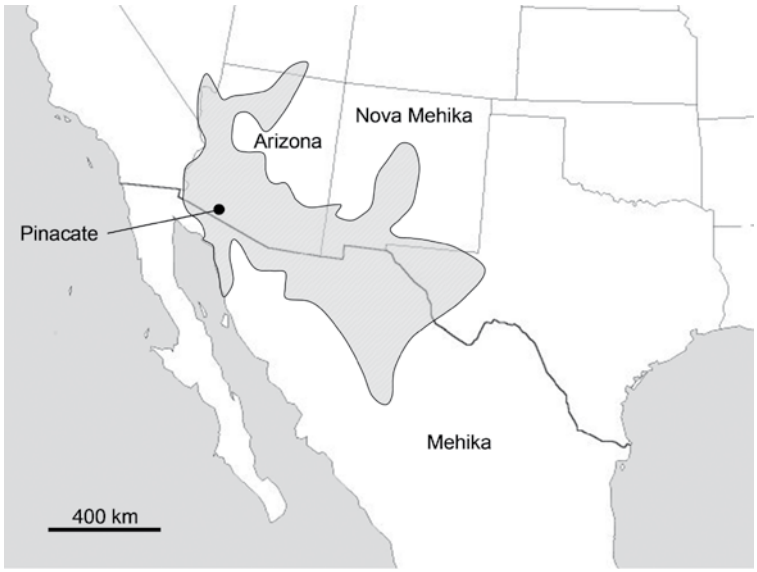
- delovni list,
- barvice: rumena, modra, oranžna, rdeča, siva oz. črna (ali navadni svinčnik), lahko tudi svetlo rjava (drap),
- kalkulator,
- škarje,
- preglednica z genetskim kodom (s trojčki nukleotidov v molekulah mRNA),
- preglednica, ki prikazuje kemijsko zgradbo 20 aminokislin, njihove kemijske lastnosti (polarnost, naboj), njihova imena ter mednarodne tričrkovne okrajšave teh imen (npr. glicin Gly, treonin Thr).

Faza 1

Pregled predhodnih znanstvenih ugotovitev

Vsaka znanstvena raziskava temelji na podatkih in ugotovitvah, ki so jih prej zbrali znanstveniki. Oglejmo si torej glavne podatke o skalni žepni miši.

Skalna žepna miš (*Chaetodipus intermedius*) je majhen glodavec, ki živi na skalnih območjih v puščavah na jugozahodu ZDA in v Mehiki (slika 1). Njeno telo (brez repa) je dolgo približno 17 cm, tehta pa okrog 15 g. Je nočno aktivna žival, ki se pretežno prehranjuje s semeni in plodovi različnih rastlin. Skalno žepno miš plenijo sove, kojoti, lisice in drugi plenilci malih sesalcev. Skalna žepna miš v prst skoplje majhen brlog, v katerem se skriva in skoti mladiče. Razmnožuje se več mesecev v pomladnem času. V enem leglu so običajno trije do šest mladičev.



Slika 1: Zemljevid razširjenosti skalne žepne miši na puščavskem območju Severne Amerike. Ta vrsta označenega (šrafiranega) območja ne poseljuje strnjeno. Živi namreč le na skalnatih območjih, na peščenih pa ne. Pinacate je eno izmed območij, na katerih so znanstveniki populacije skalne žepne miši podrobneje preučili.

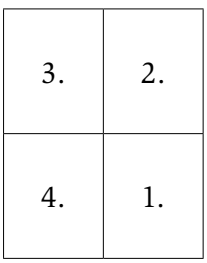
Večina puščavskega območja, ki ga poseljuje skalna žepna miš, je sestavljena iz svetlih kamnin, predvsem iz granita. Med skalnimi območji (npr. nizkimi griči) so svetla peščena območja, na katerih se skalna žepna miš ne zadržuje rada. Na več mestih v puščavi najdemo območja črnih vulkanskih kamnin (bazalt), ki so nastala s strjevanjem izbruhane lave in so stara od tisoč do nekaj milijonov let, obsegajo pa do več 100 km^2. Tako kot drugi predeli puščave so tudi ta območja poraščena z redkim nizkim grmičjem in tudi na teh temnih skalnih območjih živi skalna žepna miš.

Že od leta 1921 do leta 1937 so ameriški biologi v več znanstvenih člankih objavili svoja opažanja, da ima v populacijah puščavskih skalnih miši na večini puščavskega območja, kjer so kamnine svetle, velika večina osebkov dlako svetlorjave barve, na območjih temnih vulkanskih kamnin pa ima velika večina osebkov temnosivo dlako. Znanstvenike je zanimalo, kako lahko razložimo te velike razlike v pogostosti svetlih in temnih osebkov na različnih območjih.

Znanstveniki so tudi pri drugih vrstah glodavcev opazili povezavo med pogostostjo osebkov različne barve in prevladujočo barvo okolja, v katerem te populacije živijo. Za več vrst nočno aktivnih malih glodavcev so s poskusi dokazali, da sove med nočnim lovom hitreje opazijo osebke, katerih barva dlake je zelo različna od barve okolja. Čeprav tovrstnih poskusov niso opravili s skalno žepno mišjo, lahko sklepamo, da so tudi pri tej vrsti za plenilce bolj opazni osebki, katerih barva se ne sklada z njihovim okoljem.

1. Kako lahko razložimo pojav, da so v populacijah skalnih žepnih miši na svetlih kamninah bolj pogosti svetli osebki, na temnih kamninah pa temni osebki? Za lažje razmišljanje si oglej štiri slike, ki prikazujejo pogostost osebkov svetle in temne barve na dveh vzorčnih mestih, A in B, v puščavi. V okvirček na vsaki sliki zapiši število svetlih in temnih skalnih žepnih miši. Skupno število osebkov na vsakem vzorčnem mestu je vedno 20.

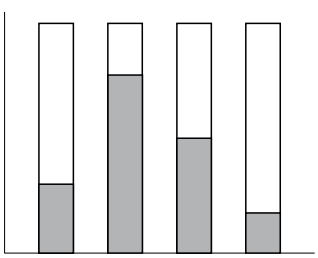
   Glej podatke v preglednici 1.

2. 

   Slika 3 prikazuje stanje v štirih časovnih točkah znotraj obdobja več sto let. (Število prikazanih miši ne temelji na rezultatih znanstvenih raziskav, temveč je izmišljeno.) Na vsaki od slik je zgoraj prikazano vzorčno mesto A, spodaj pa vzorčno mesto B ob isti časovni točki. Slike razvrsti v časovno zaporedje, ki se ti zdi smiselno, in na vrhu vsake slike obkroži njeno mesto v tem časovnem zaporedju. Pri razvrščanju upoštevaj zgoraj navedene podatke o skalni žepni miši. Razloži, zakaj si slike postavil v takšno zaporedje. Kako lahko razložimo spreminjanje pogostosti svetlih in temnih osebkov skozi čas na obeh vzorčnih mestih?

   Na vzorčnem mestu A je podlaga ves čas svetla in ves čas prevladujejo svetli osebki. Na vzorčnem mestu B pa je na prvi sliki podlaga svetla, na preostalih treh slikah pa temna. To lahko razložimo z izlivom lave, ki se je strnila v temne kamne, v obdobju med prvo in drugo sliko, nato pa se je na nove temne kamnine iz okolice priselila populacija, v kateri prevladujejo svetli osebki. Dijaki naj v skladu s svojim predhodnim znanjem poskušajo utemeljiti vrstni red slik in razložiti spreminjanje pogostosti svetlih oz. temnih osebkov na vzorčnem mestu B. Pomembno je, da ugotovijo, da se pogostost temnih osebkov na vzorčnem mestu B spreminja postopno skozi več generacij zaradi boljše opaznosti svetlih osebkov na temnih kamninah, kar je povezano z večjim plenjenjem svetlih osebkov in zato manjšo verjetnostjo svetlih osebkov za preživetje. Pomembno je tudi, da dijaki različno verjetnost za preživetje svetlih in temnih osebkov povežejo z različno uspešnostjo razmnoževanja. Za delovanje naravnega izbora namreč ni pomembno preživetje osebkov, temveč število potomcev, ki jih ti osebki imajo. V obravnavanem primeru lahko naravni izbor deluje le ob predpostavki, da je barva dlake pri skalni žepni miši dedna.

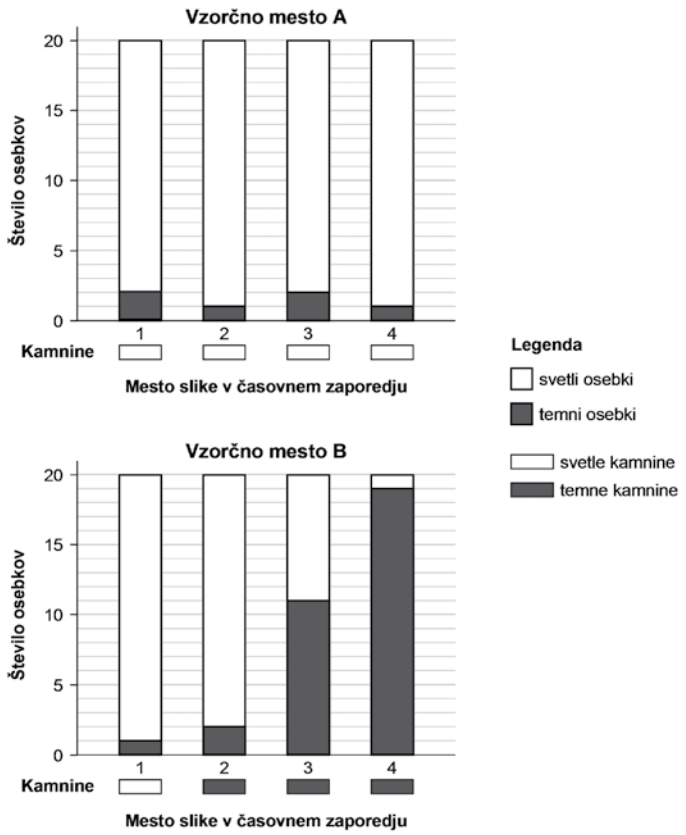
3. V razpravi z drugimi učenci ugotovi, kakšno je ob upoštevanju podanih podatkov smiselno zaporedje slik, in svoje oznake zaporedja na slikah po potrebi popravi. Nato podatke s slik zberi v preglednici 1. Na temelju zbranih podatkov dopolni sestavljena stolpčna grafa na sliki 2, ki prikazujeta spreminjanje števila svetlih in temnih osebkov na vsakem od vzorčnih mest. Primer sestavljenega stolpčnega grafa je prikazan na desni. V legendi na sliki 2 označi barve, ki si jih uporabil za ri-



sanje stolpcev. Pravokotniki pod osjo *x* prikazujejo, kakšna je bila barva kamnin na vzorčnem mestu v določenem času – temna ali svetla. Pravokotnike ustrezno pobarvaj in dopolni tudi legendo.

Preglednica 1: Število svetlih in temnih osebkov na vzorčnih mestih A in B.

		Mesto slike v časovnem zaporedju			
Vzorčno mesto	**Osebki**	**1**	**2**	**3**	**4**
A	svetli	18	19	18	19
	temni	2	1	2	1
B	svetli	19	18	9	1
	temni	1	2	11	19



Slika 2: Število svetlih in temnih osebkov na vzorčnih mestih A in B.

4. Razloži, zakaj pri skalni žepni miši barva dlake vpliva na uspešnost osebkov. Uspešnost označuje sposobnost osebka, da preživi in se razmnoži (ima potomce). Kateri osebki so bolj uspešni na svetlih in kateri na temnih kamninah in zakaj?

   Na svetlih kamninah so bolj uspešni svetli osebki, na temnih kamninah pa temni osebki. Različna uspešnost osebkov z različno barvo dlake pri preživetju in razmno-

ževanju je povezana z opaznostjo osebkov za njihove plenilce. Na svetlih kamninah so za plenilce bolj opazni temni osebki, svetli pa so bolj prikriti. Zato imajo svetli osebki večjo verjetnost za preživetje in razmnoževanje kot temni osebki. Na temnih kamninah pa je situacija ravno obratna – temni osebki so tu bolj uspešni kot svetli.

5. Razloži prisotnost temnih osebkov na vzorčnem mestu A. Pojasni, zakaj se na tem vzorčnem mestu pogostost temnih osebkov ni postopno povečevala.

Najverjetneje so temni osebki posledica mutacije v genu za barvo dlake. Vendar pa so temni osebki na svetlih kamninah dobro opazni za plenilce, zato so pri preživetju in razmnoževanju manj uspešni kot svetli osebki. Posledica tega učinka je, da se pogostost temnih osebkov v populaciji na svetlih kamninah ni postopno povečevala, temveč so v tej populaciji ves čas prevladovali svetli osebki.

6. Opiši, kako se je skozi čas spreminjala pogostost svetlih in temnih osebkov v populaciji na vzorčnem mestu B. Pri opisu uporabi podatke, ki si jih urejeno prikazal v preglednici 1 in na sliki 2. Napiši tudi razlago za takšno spreminjanje populacije. V razlagi uporabi naslednje izraze: naravni izbor, plenilec oz. plenilstvo, fenotip, potomci, varovalna barva, prilagoditev.

Na vzorčnem mestu B so bile v prvi časovni točki svetle kamnine in prevladovali so svetli osebki (19 svetlih in 1 temen osebek). Nato je na tem območju prišlo do izliva lave in nastale so temne kamnine. V drugi časovni točki so bile kamnine že temne, v populaciji priseljeni na te nove kamnine pa so prevladovali svetli osebki. V tretji in četrti časovni točki se je v tej populaciji postopno povečala pogostost temnih osebkov, ki so bili v četrti časovni točki bistveno bolj pogosti kot svetli osebki (1 svetel osebek in 19 temnih osebkov).

Na vzorčnem mestu B sta bila glede barve dlake ves čas prisotna dva fenotipa: svetla in temna dlaka. V prvi časovni točki so bile kamnine svetle, zato so bili za plenilce bolj opazni temni kot svetli osebki. Svetli osebki so bili težje opazni zaradi varovalne barve, podobne barvi kamnin. Razmere na tem vzorčnem mestu so se bistveno spremenile med prvo in drugo časovno točko, ko se je barva kamnin (podlage) spremenila iz svetle v temno. V drugi časovni točki so v populaciji prevladovali svetli osebki, vendar je bilo nekaj tudi temnih osebkov. V novih razmerah so bili svetli osebki bolj opazni za plenilce kot temni osebki – zaradi spremembe v okolju je temna barva postala varovalna barva. Temni osebki so imeli večjo verjetnost za preživetje kot svetli, in s tem tudi večjo verjetnost za uspešno razmnoževanje – temni osebki so imeli v povprečju v vsaki generaciji več potomcev kot svetli. (Pri tem upoštevamo, da imajo osebki, ki ne preživijo do obdobja razmnoževanja, 0 potomcev.) Zaradi tega se je postopno skozi generacije v populaciji povečevala pogostost temnih osebkov. Takšno postopno spreminjanje pogostosti osebkov z različno barvo dlake skozi generacije je primer evolucijske prilagoditve populacije na spremenjeno okolje. To je tudi primer naravnega izbora, saj imajo v vsaki generaciji osebki z različnimi dednimi lastnostmi (barvo dlake) zaradi razmer v okolju (opaznost za plenilce na različni barvi kamnin) različno verjetnost za uspešno preživetje in s tem uspešno razmnoževanje. V vsaki generaciji se tudi skoti več mladičev, kot jih preživi do obdobja razmnoževanja (čezmerno potomstvo), pri čemer je eden izmed dejavnikov, ki določajo verjetnost preživetja, boljša ali slabša opaznost osebka za plenilce.

Opomba: Pomembno je, da dijak loči med opisom podatkov oz. rezultatov raziskave v grafu ali preglednici in med razlago teh rezultatov.

7. Napovej, kakšne bodo najverjetneje populacije skalnih miši na vzorčnih mestih A in B čez 100 let. Predpostavi, da se v tem času okolje ne bo bistveno spremenilo. Svoj odgovor utemelji.

Ob nespremenjenih razmerah bodo čez 100 let populacije skalne žepne miši na vzorčnih mestih A in B glede pogostosti barve dlake najverjetneje podobne kot na slikah za četrto časovno točko: v populaciji na svetlih kamninah na vzorčnem mestu A bodo močno prevladovali svetli osebki, v populaciji na temnih kamninah na vzorčnem mestu B pa bodo močno prevladovali temni osebki. Ob nespremenjenih razmerah bo na obeh vzorčnih mestih selekcijski pritisk (zaradi plenjenja) podoben kot v četrti časovni točki – na vzorčnem mestu A bodo imeli v vsaki generaciji v povprečju svetli osebki več potomcev kot temni osebki, na vzorčnem mestu B pa bodo imeli v vsaki generaciji v povprečju temni osebki več potomcev kot svetli osebki. Tako bo naravni izbor vzdrževal podobno pogostost fenotipov v obeh populacijah kot je bila v četrti časovni točki.

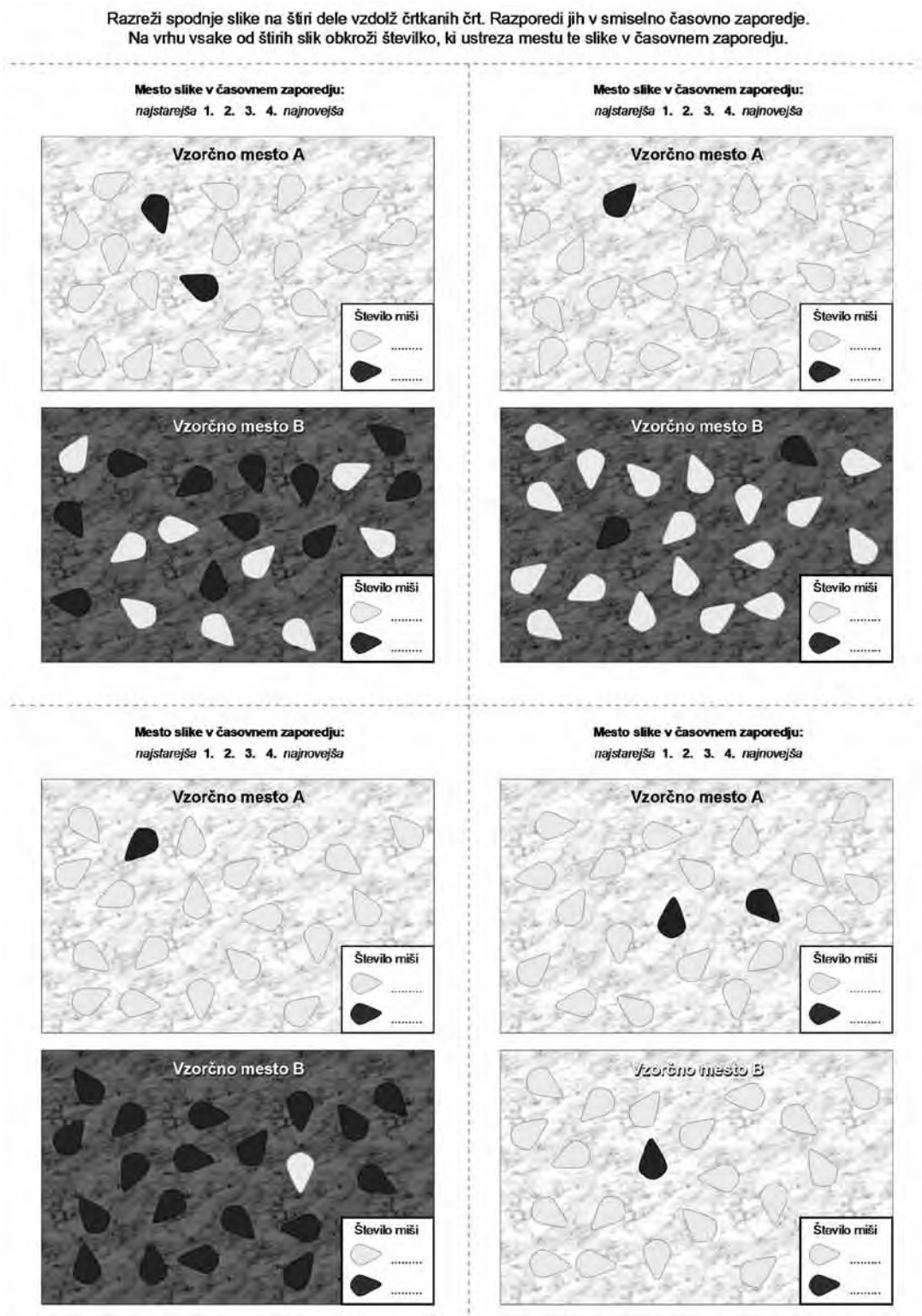
Opomba: V znanosti ima strokovni izraz napoved *poseben pomen. Pri tem ne gre za vedeževanje, temveč za napoved rezultatov še neopravljene raziskave na temelju obstoječih znanstvenih razlag. V obravnavanem primeru bi lahko denimo na temelju razlage o delovanju naravnega izbora (različna barva podlage, različna barva telesa, različna opaznost za plenilce) napovedali, da bodo v populacijah na območjih s temnimi kamninami, ki jih znanstveniki še niso raziskali, prevladovali osebki s temno dlako. Pravilnost te napovedi je mogoče preveriti s terensko raziskavo, s katero bi znanstveniki ugotovili dejansko pogostost različno obarvanih osebkov na še neraziskanih temnih območjih. Pravilnost zgornje napovedi pa bi bilo mogoče preveriti tako, da bi znanstveniki čez 100 let v populacijah na temnih kamninah, ki so jih do zdaj že raziskali, ponovno preverili razmere (npr. ali so plenilci še vedno iste vrste) in nato ugotovili pogostost svetlih in temnih miši v populaciji. Uporabnost neke znanstvene razlage za pravilno napovedovanje rezultatov še neopravljenih raziskav je eden od pomembnih preizkusov veljavnosti te znanstvene razlage.*

8. Ob imenu vrste skalna žepna miš takoj pomislimo na nam najbolj znano vrsto miši, namreč na hišno miš z znanstvenim latinskim imenom *Mus musculus*, ki jo znanstveniki pogosto uporabljajo v raziskavah in jo običajno imenujejo kar »laboratorijska miš«. Toda skalna žepna miš dejansko ni miš, temveč jo tako imenujemo, ker je podobna mišim. Spodaj je prikazana uvrstitev skalne žepne miši v sistem. V preglednico vnesi še podatke za hišno miš. Podatke poišči v ustreznih strokovnih virih.

Domena	Eukarya	Eukarya
Kraljestvo	Animalia	Animalia
Deblo	Chordata	Chordata
Razred	Mammalia	Mammalia
Red	Rodentia	Rodentia
Družina	Heteromydae	Muridae
Poddružina	Perognathinae	Murinae
Rod	*Chaetodipus*	*Mus*
Vrsta	***Chaetodipus intermedius*** **skalna žepna miš**	***Mus musculus*** **hišna miš**

Katera je najnižja sistematska kategorija, v katero sta skupaj uvrščeni skalna žepna miš in hišna miš?

*Najnižja skupna sistematska kategorija je red (*Rodentia – glodavci*).*



Slika 3: Model prikaza stanja populacije skalne žepne miši v štirih časovnih točkah.

Faza 2

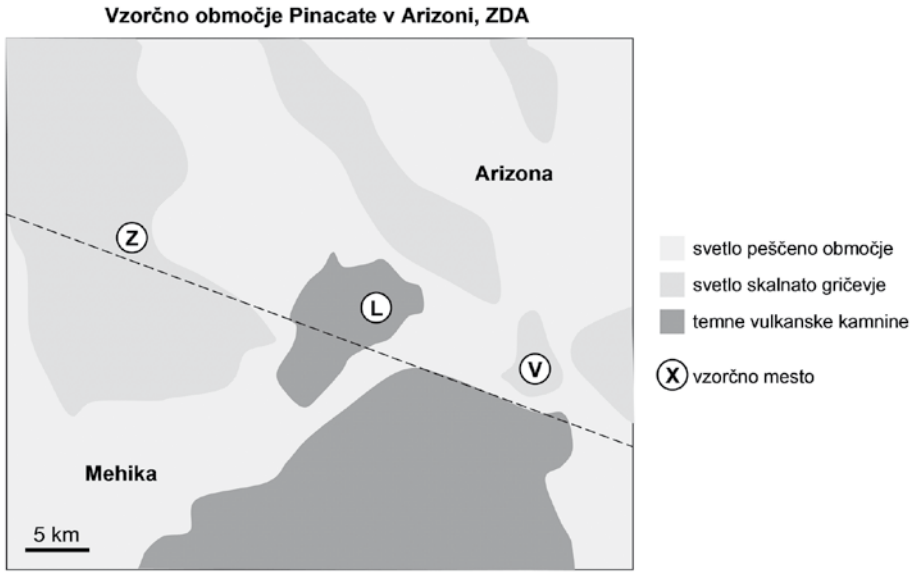
Ugotavljanje pogostosti fenotipov v populacijah skalne žepne miši

Pri razvrščanju slik v časovno zaporedje (glej *Fazo 1*) smo uporabili izmišljene podatke o številu skalnih žepnih miši na dveh vzorčnih mestih. Vsekakor bi bilo zanimivo, če bi znanstveniki v zadnjih nekaj stotisočletjih natančno opazovali in beležili, kaj se je dogajalo s populacijami skalne žepne miši v ameriških puščavah, in če bi se njihovi zapisi ohranili do danes. Seveda tovrstni podatki ne obstajajo. Vseeno pa lahko s preučevanjem sedanjega stanja v različnih populacijah skalne žepne miši, z dobro načrtovano raziskavo, s sistematičnim zbiranjem in urejanjem podatkov pridemo do zanesljivih zaključkov.

Skupina ameriških znanstvenikov pod vodstvom dr. Michaela Nachmana je na začetku 21. stoletja več let preučevala populacije skalne žepne miši v puščavah na jugozahodu ZDA in v severni Mehiki. Zanimalo jih je, ali vzorce pogostosti različnih genotipov in fenotipov (barve dlake) v populacijah na različnih geografskih območjih lahko povežemo z mehanizmom delovanja naravnega izbora, torej s postopnim evolucijskim spreminjanjem populacij.

Populacija se evolucijsko spreminja, če se skozi generacije spreminja pogostost alelov v njenem genskem skladu. Za sodobne znanstvenike je velik izziv povezovanje fenotipskih lastnosti, ki jih lahko opazimo in ki vplivajo na uspešnost preživetja in razmnoževanja osebkov (prilagoditvene lastnosti oz. evolucijske prilagoditve), z aleli različnih genov. Pri tem poskušajo natančno ugotoviti, katere mutacije v katerih genih vplivajo na fenotipske lastnosti.

Nachmanova raziskovalna skupina je preučila populacije skalne žepne miši na 15 različnih mestih v puščavi na jugozahodu ZDA. Tu si bomo natančneje ogledali samo majhen del teh obsežnih raziskav. Osredotočili se bomo na območje, ki je prikazano na sliki 3. Na tem območju v Arizono sega najbolj severni del (oznaka L na sliki 3) 1500 km^2 velikega mehiškega območja vulkanskih kamnin, ki so stare od 120 tisoč let do 1,7 milijona let.



Slika 4: Zemljevid vzorčnega območja Pinacate v Arizoni, ZDA. Položaj tega območja je označen na sliki 1. Oznake vzorčnih mest: L – lava (temne vulkanske kamnine), Z – zahodno od lave (svetlo skalnato območje), V – vzhodno od lave (svetlo skalnato območje).

Biologi so na vzorčni mesti L in V postavili pasti za majhne sesalce. Skupaj so ujeli 29 osebkov. Vsaki živali so dodelili oznako in zabeležili o njej več podatkov: datum in mesto ulova, težo, dolžino telesa, starost (mlad ali odrasel osebek), spol in barvo dlake. S posebno napravo so tudi izmerili barvo dlake vsakega ujetega osebka in barvo kamnin na obeh vzorčnih mestih.

Podatki za barvo dlake posameznih ujetih osebkov so prikazani v preglednici 2. Ker skalne žepne miši poseljujejo predvsem skalnata območja in se ne zadržujejo rade na peščenih tleh, lahko osebke na vzorčnih mestih L in V obravnavamo kot ločeni populaciji. Obe skalnati vzorčni mesti sta namreč ločeni s peščenim pasom (glej zemljevid na sliki 4).

Preglednica 2: Fenotipske in genotipske lastnosti osebkov na vzorčnih mestih L in V.

			Genotip (aleli gena *Mc1r*)	
Kamnine na vzorčnem mestu	**Oznaka osebka**	**Fenotip (barva dlake)**	**Končna oznaka**	**Začasna oznaka**
temne kamnine (vzorčno mesto L)	1371	T	DD	a1 + a1
	1373	T	DD	a1 + a1
	1374	T	DD	a1 + a1
	1375	T	DD	a1 + a1
	1376	T	DD	a1 + a1
	1377	T	DD	a1 + a1
	1378	T	DD	a1 + a1
	1381	T	DD	a1 + a1
	1383	T	DD	a1 + a1
	1385	T	DD	a1 + a1
	1386	T	DD	a1 + a1
	1372	T	Dd	a1 + a2
	1379	T	Dd	a1 + a2
	1382	T	Dd	a1 + a2
	1384	T	Dd	a1 + a2
	1416	T	Dd	a1 + a2
	1387	S	dd	a2 + a2
	1414	S	dd	a2 + a2
svetle kamnine (vzorčno mesto V)	1412	T	Dd	a1 + a2
	1402	S	dd	a2 + a2
	1403	S	dd	a2 + a2
	1404	S	dd	a2 + a2
	1405	S	dd	a2 + a2
	1406	S	dd	a2 + a2

svetle kamnine (vzorčno mesto V)	1407	S	dd	a2 + a2
	1408	S	dd	a2 + a2
	1409	S	dd	a2 + a2
	1410	S	dd	a2 + a2
	1411	S	dd	a2 + a2

Oznake fenotipov: S – svetla dlaka, T – temna dlaka. Oznake alelov: a1 – alel 1, a2 – alel 2.

Opomba: Podatke o genotipu bomo uporabili v nadaljevanju (glej *Fazo 3*).

V preglednici 2 so prikazani podatki za posamezne osebke. Te podatke je treba zbrati in urediti. Najprej si oglejmo, kaj lahko ugotovimo o pogostosti obeh fenotipov, svetle in temne dlake, na vzorčnih mestih V in L.

9. Na temelju podatkov v preglednici 2 ugotovi število ujetih osebkov s svetlo in temno dlako na vzorčnih mestih V in L ter te podatke vpiši v ustrezna polja v preglednici 3 (stolpca z oznako *Število osebkov*). Nato izračunaj pogostost fenotipov (delež v odstotkih) na obeh vzorčnih mestih in te podatke vpiši v ustrezna polja v preglednici 3 (stolpca z oznako *Pogostost fenotipa*).

Preglednica 3: Pogostost fenotipov na vzorčnih mestih V in L.

	Število osebkov		**Pogostost fenotipa (%)**	
Kamnine	**svetle kamnine** (mesto V)	**temne kamnine** (mesto L)	**svetle kamnine** (mesto V)	**temne kamnine** (mesto L)
Fenotip				
S	10	2	91 %	11 %
T	1	16	9 %	89 %
Skupaj	**11**	**18**	**100 %**	**100 %**

Oznake fenotipov: S – svetla dlaka, T – temna dlaka.

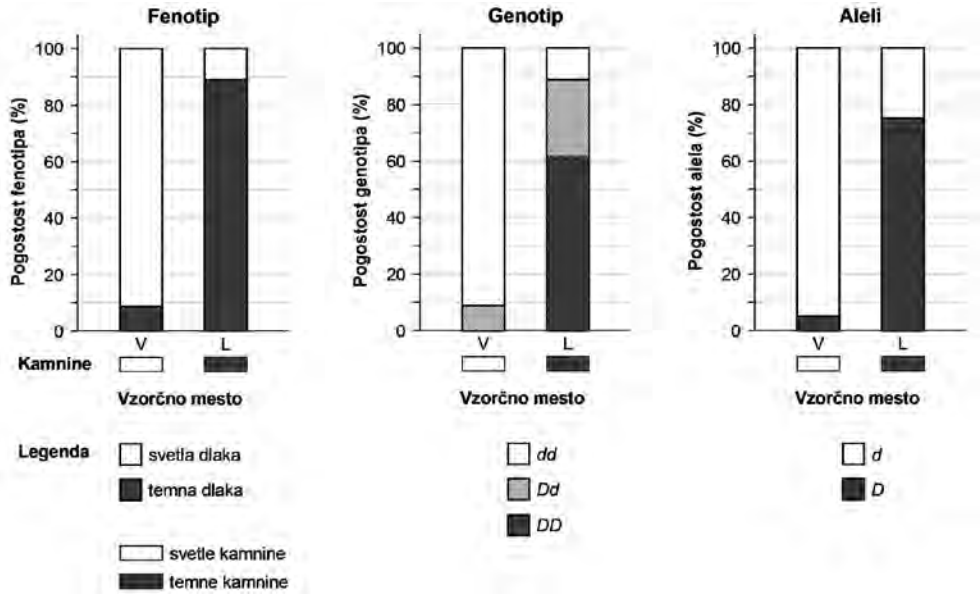
Znanstveniki so na vsakem vzorčnem mestu ujeli samo določeno število osebkov in ne vseh osebkov, ki tam živijo. Kljub temu pa lahko na temelju pogostosti lastnosti ujetih osebkov ocenimo, kakšna je pogostost teh lastnosti v celi populaciji. Če je na primer na nekem območju večina osebkov temnih, pričakujemo, da bo tudi večina ujetih osebkov temnih. Zato lahko podatke o pogostosti fenotipov med ujetimi osebki, ki so v preglednici 3, obravnavamo kot oceno dejanske pogostosti fenotipov v celi populaciji na vsakem vzorčnem mestu.

10. Na temelju podatkov o pogostosti fenotipov v preglednici 3 dopolni graf *Fenotip* na sliki 4. V oba sestavljena stolpca nariši pogostost fenotipov. Pod osjo *x* z barvanjem pravokotnikov označi, ali so na vzorčnem mestu V in L kamnine svetle ali temne. Ustrezno pobarvaj tudi legendo pod grafom.

11. Medtem ko smo pri zlaganju štirih slik v časovno zaporedje uporabili izmišljene podatke (glej *Fazo 1*), so podatki v preglednici 3 oziroma na sliki 4 rezultati dejan-

ske znanstvene raziskave. Na temelju teh podatkov, zbranih v naravnih populacijah skalne žepne miši, ugotovi, kateri fenotip je uspešnejši na svetlih in kateri na temnih kamninah. Ali so takšni rezultati pričakovani – ali so v skladu z ugotovitvami pri razvrščanju slik v časovno zaporedje (glej sliko 2)? Kako lahko razložimo rezultate v preglednici 3 oziroma na sliki 4?

Na svetlih kamninah (vzorčno mesto V) so uspešnejši svetli osebki, na temnih kamninah (vzorčno mesto L) pa temni osebki. Ti rezultati so pričakovani – podobni so populacijam v četrti časovni točki na sliki 2. Rezultati raziskave kažejo, da je pogostost barve dlake v obeh populacijah posledica naravnega izbora. Na svetlih kamninah so svetli osebki bolje skriti pred plenilci kot temni, zato imajo v povprečju svetli osebki večjo verjetnost za preživetje in uspešno razmnoževanje kot temni osebki. Na temnih kamninah je stanje ravno obratno.



Slika 5: Pogostost fenotipov, genotipov in alelov na vzorčnih mestih V in L. Urejeni podatki so v preglednicah 3, 6 in 7. Podatki za posamezne osebke so v preglednici 2. Zemljevid vzorčnih mest je prikazan na sliki 4.

12. Znanstveniki na podlagi različnih podatkov ocenjujejo, da se je skalna žepna miš priselila na območje Pinacate s severa Arizone pred približno 1,5 milijoni let. Vulkanske kamnine na tem območju imajo približno enako starost. Ali meniš, da se je skalna žepna miš naselila na območjih temnih vulkanskih kamnin takoj, ko se je lava shladila? Svoj odgovor razloži. (Namig: Pomisli, kaj skalna žepna miš še potrebuje za življenje, poleg življenjskega prostora – skalnatega območja.)

Skalna žepna miš za preživetje potrebuje tudi hrano. Prehranjuje se z rastlinskimi semeni in plodovi. Na območju novih temnih kamnin se je lahko naselila šele po tem, ko so to območje poselile rastline.

Faza 3

Ugotavljanje povezave med barvo dlake in geni

Skupino znanstvenikov pod vodstvom dr. Michaela Nachmana je zanimalo, z mutacijami katerega gena sta povezani svetla in temna barva dlake pri skalni žepni miši. Želeli so torej povezati gene s fenotipom.

Prvi problem je vprašanje, ali se barva dlake pri skalni žepni miši deduje. Ta vrsta je zelo težavna za gojenje v ujetništvu, zato ni mogoče izvesti nadzorovanih poskusov križanja (parjenja) osebkov z različno barvo dlake, s katerimi bi lahko ugotovili način dedovanja (po principu Mendlovih poskusov z grahom). Vendar pa so znanstveniki že prej raziskali številne primere dedovanja barve dlake pri različnih sesalcih, med drugim tudi pri glodavcu hišni miši. V vseh preučenih primerih se barva dlake brez izjeme deduje, določa pa jo več genov. Sklepamo lahko, da je tudi pri skalni žepni miši barva dlake dedna lastnost.

Skalna žepna miš sodi med glodavce. Do leta 2012 so znanstveniki določili zaporedje nukleotidov za celoten genom pri treh vrstah glodavcev, ki jih pogosto uporabljajo kot modelne organizme v laboratorijskih raziskavah: pri hišni miši, sivi podgani in morskem prašičku. Pri vseh treh vrstah glodavcev *haploidni* jedrni genom vsebuje okrog 2,5 milijarde baznih parov in okrog 20 000 genov. Najverjetneje je sestava genoma podobna tudi pri skalni žepni miši. Toda kako naj znanstveniki med to množico 20 000 genov najdejo tistega, ki je povezan z barvo dlake?

Tudi tu so se oprli na prej znane podatke o genih, ki vplivajo na barvo dlake pri različnih sesalcih, tudi pri laboratorijski miši. Pri sesalcih je v določanje barve dlake vpletenih več genov, med katerimi sta tudi gen *Agouti* in gen *Mc1r* (poimenovan po angleških začetnicah za beljakovino *melanocortin-1-receptor* – melanokortin-1-receptor). Znanstveniki so pri vseh skalnih žepnih miših, ujetih na vzorčnih mestih V in L, določili zaporedje nukleotidov v genu *Agouti*, vendar niso ugotovili povezave med barvo dlake in različicami tega gena.

Zanimivejši pa so bili rezultati analize gena *Mc1r*, ki si jih bomo podrobneje ogledali. Znanstveniki so določili zaporedje nukleotidov v celotnem genu *Mc1r*, dolgem 954 nukleotidov, pri vseh ujetih osebkih. Telesne celice skalne žepne miši so diploidne, zato vsaka celica vsebuje po dva izvoda gena *Mc1r* – enega na vsakem izmed homolognih kromosomov. Tako so znanstveniki pri vsakem osebku določili zaporedje nukleotidov v obeh izvodih gena *Mc1r*.

Ob primerjavi zaporedij nukleotidov v genu *Mc1r* iz različnih osebkov so ugotovili, da v preučevanih populacijah obstajata dve različici oz. dva alela tega gena, ki so ju poimenovali z začasnimi oznakami *alel 1* in *alel 2*. Razlike med obema aleloma si bomo podrobneje ogledali v nadaljevanju (glej *Fazo 5*). Tu pa bomo najprej poskušali ugotoviti, kakšna je povezava med barvo dlake in aleloma gena *Mc1r*.

V stolpcu *Genotip – Začasna oznaka* v preglednici 2 je prikazano, katera alela so vsebovali posamezni ujeti osebki. Znanstvenike je seveda zanimalo, ali sta *alel 1* in *alel 2* vpletena v določanje barve dlake. Zato so podatke uredili, kakor je prikazano v preglednici 4.

13. Na podlagi podatkov o fenotipu in alelih za posamezne osebke, ki so prikazani v preglednici 2, izpolni stolpce *S*, *T* in *Skupaj* v preglednici 4. Pri tem upoštevaj vseh 29 osebkov, ki so jih znanstveniki ujeli na vzorčnem mestu L ali na vzorčnem mestu V, torej združi podatke za obe vzorčni mesti.

Preglednica 4: Povezava med genotipom in fenotipom za vse osebke, ujete na vzorčnih mestih V in L.

Genotip		**Fenotip**		
Začasna oznaka	**Končna oznaka**	**S**	**T**	**Skupaj**
alel 1 + alel 1	DD	0	11	**11**
alel 1 + alel 2	Dd	0	6	**6**
alel 2 + alel 2	dd	12	0	**12**
	Skupaj	**12**	**17**	**29**

Oznake fenotipov: S – svetla dlaka, T – temna dlaka.

14. Na podlagi podatkov, urejenih v preglednici 4, so znanstveniki ugotovili, da so zbrani podatki v skladu z dominantno-recesivnim modelom določanja barve dlake, pri katerem je eden od alelov dominanten in drugi recesiven. Pojasni, kako so znanstveniki lahko prišli do tega zaključka. V odgovoru upoštevaj podatke v preglednici 4 in pojasni, kateri od alelov je dominanten in kateri recesiven.

Vsi osebki z dvema aleloma 1 so bili temne barve. Tudi vsi osebki z alelom 1 in alelom 2 so bili temni. Vsi osebki z dvema aleloma 2 pa so bili svetle barve. Takšen način izražanja genov ustreza dominantno-recesivnemu modelu. Dominantni alel je alel 1 in določa temno barvo dlake – tako homozigotni kot heterozigotni nosilci tega alela so temni. Recesivni alel pa je alel 2, ki določa svetlo dlako – samo homozigotni nosilci tega alela so svetle barve.

15. Na podlagi urejenih podatkov v preglednici 4 so znanstveniki tistemu alelu gena *Mc1r*, ki je dominanten, dodelili končno oznako *D*, recesivnemu pa *d*. Ob upoštevanju svojih ugotovitev dopolni preglednico 5, ki prikazuje oznake in lastnosti alelov in genotipov.

Preglednica 5: Lastnosti alelov in genotipov.

Lastnosti ALELOV			
Začasna oznaka	**Končna oznaka** (*D* ali *d*)	**Alel je ...** (dominanten ali recesiven)	**Alel določa ...** (svetlo ali temno dlako)
alel 1	D	dominanten	temna dlaka
alel 2	d	recesiven	svetla dlaka
Lastnosti GENOTIPOV			
Začasna oznaka	**Končna oznaka** (*Dd, Dd* ali *dd*)	**Osebek je ...** (dominanten /recesiven homozigot ali heterozigot)	**Genotipu ustreza fenotip ...** (svetla ali temna dlaka)
alel 1 + alel 1	DD	dominanten homozigot	temna dlaka
alel 1 +alel 2	Dd	heterozigot	**temna dlaka**
alel 2 +alel 2	**dd**	**recesiven homozigot**	**svetla dlaka**

16. Na podlagi ugotovitev izpolni stolpec *Genotip – Končna oznaka* v preglednici 2. Za vsak osebek napiši njegov genotip: *DD*, *Dd* ali *dd*. Na enak način izpolni tudi stolpec *Genotip – Končna oznaka* v preglednici 4.

Glej izpolnjeni preglednici 2 in 4.

17. Na podlagi podatkov v preglednici 2 ugotovi število osebkov z genotipom *DD*, *Dd* in *dd* na vzorčnih mestih V in L ter te podatke vpiši v ustrezna polja v preglednici 6 (stolpca z oznako *Število osebkov*). Nato izračunaj pogostost genotipov (delež v odstotkih) na obeh vzorčnih mestih in te podatke vpiši v ustrezna polja v preglednici 6 (stolpca z oznako *Pogostost genotipa*).

Preglednica 6: Pogostost genotipov na vzorčnih mestih V in L.

	Število osebkov		**Pogostost genotipa (%)**	
Kamnine	**svetle kamnine** (mesto V)	**temne kamnine** (mesto L)	**svetle kamnine** (mesto V)	**temne kamnine** (mesto L)
Genotip				
DD	0	11	0 %	61 %
Dd	1	5	9 %	28 %
dd	10	2	91 %	11 %
Skupaj	**11**	**18**	**100 %**	**100 %**

18. Na podlagi podatkov o pogostosti genotipov v preglednici 6 dopolni graf *Genotip* na sliki 5. V oba sestavljena stolpca nariši pogostost genotipov. Pod osjo x z barvanjem pravokotnikov označi, ali so na vzorčnem mestu V in L kamnine svetle ali temne. Ustrezno pobarvaj tudi legendo pod grafom.

Glej graf Genotip na sliki 5.

19. Zbrane podatke lahko uporabimo tudi za oceno pogostosti alelov *D* in *d* v populaciji. V stolpce *Število izvodov alela* v preglednici 7 napiši skupno število izvodov vsakega od alelov za vse osebke, ujete na vzorčnem mestu V oziroma L. Upoštevaj, da ima vsak osebek dva izvoda gena *Mc1r*, po enega na vsakem homolognem kromosomu. Potrebne podatke najdeš v preglednici 6 ali v preglednici 2. Nato izračunaj še pogostost alela v genskem skladu populacije (delež alela v odstotkih).

Preglednica 7: Pogostost alelov na vzorčnih mestih V in L.

	Število izvodov alela		**Pogostost alela (%)**	
Kamnine	**svetle kamnine** (mesto V)	**temne kamnine** (mesto L)	**svetle kamnine** (mesto V)	**temne kamnine** (mesto L)
Alel				
D	1	27	5 %	75 %
d	21	9	95 %	25 %
Skupaj	**22**	**36**	**100 %**	**100 %**

20. Na podlagi podatkov v preglednici 7 dopolni graf *Aleli* na sliki 5. V oba sestavljena stolpca nariši pogostost alelov v genskem skladu populacije. Pod osjo *x* z barvanjem pravokotnikov označi, ali so na vzorčnem mestu V in L kamnine svetle ali temne. Ustrezno pobarvaj tudi legendo pod grafom.

Glej graf Aleli na sliki 5.

21. Na sliki 5 si grafično prikazal podatke o pogostosti fenotipov, genotipov in alelov v populacijah na vzorčnih mestih V in L. Opiši rezultate, ki so prikazani na grafih. Pri tem se osredotoči zgolj na opisovanje stanja v obeh populacijah, ki ga prikazujejo grafi, in ne razlagaj, zakaj je stanje takšno.

Na vzorčnem mestu V so kamnine svetle, na vzorčnem mestu L pa temne. V populaciji skalnih žepnih miši na svetlih kamninah so močno prevladovali osebki svetle barve, na temnih kamninah pa osebki temne barve. Na svetlih kamninah je imela večina ujetih osebkov recesivni homozigotni genotip dd. Le en osebek, ki predstavlja okoli 10 % ujetih živali, je bil heterozigot Dd. Med ujetimi osebki ni bilo nobenega dominantnega homozigota DD. Drugače je bilo na temnih kamninah, kjer je imela več kot polovica ujetih živali genotip DD, manj je bilo osebkov z genotipom Dd in najmanj osebkov z genotipom dd. Obe populaciji sta se razlikovali tudi po pogostosti alelov D in d v genskem skladu. Na svetlih kamninah je močno prevladoval recesivni alel d (več kot 90 %), na temnih kamninah pa je bil pogostejši dominantni alel D (75 %).

22. Če bi znanstveniki želeli ugotoviti, ali se določena populacija skalne žepne miši evolucijsko spreminja, bi morali zbirati podatke o pogostosti fenotipov in genotipov v tej populaciji skozi več generacij. Razloži, zakaj.

Populacija se evolucijsko spreminja, če se v njenem genskem skladu skozi generacije spreminja pogostost alelov. Da bi znanstveniki neposredno ugotovili, ali se preučevana populacija evolucijsko spreminja, bi tako morali skozi več generacij loviti osebke in analizirati njihove alele ter tako ugotavljati pogostost alelov v populaciji. Če bi rezultati takšne raziskave pokazali, da se pogostost alelov skozi generacije spreminja, bi to pomenilo, da se populacija evolucijsko spreminja.

23. Na vzorčnem mestu V biologi niso ujeli nobenega osebka, ki bi bil dominantni homozigot (genotip *DD*; glej sliko 5). Razloži, ali bi se v tej populaciji skalnih miši lahko skotil osebek z genotipom *DD* ali je to povsem nemogoče.

Na vzorčnem mestu V s svetlimi kamninami so znanstveniki ujeli zelo malo osebkov – samo 11. Od teh je bil en osebek temen in je imel genotip Dd, kar kaže na to, da je alel D v tej populaciji prisoten, vendar ni pogost. Temen mladič z genotipom DD bi se na primer lahko skotil, če bi se parila dva temna osebka, ki sta oba heterozigota Dd. Gre za križanje Dd × Dd, pri katerem ima četrtina mladičev genotip DD. Čeprav med ujetimi osebki ni bilo nobenega z genotipom DD, najverjetneje ti osebki v populaciji obstajajo, vendar so zelo redki (in naključno niso bili ujeti zaradi zelo majhnega števila ujetih živali). Mladič z genotipom DD bi se lahko skotil tudi, če bi se parila osebka DD × Dd ali DD × DD. Torej mladič z genotipom DD lahko nastane vedno, kadar sta oba starša temna.

24. Podatke v preglednici 6 uporabi za oceno, kolikšno pogostost genotipa *DD* lahko pričakujemo na vzorčnem mestu V s svetlimi kamninami. Uporabi Hardy-Weinbergovo enačbo. Za izhodišče uporabi podatek v preglednici 6 o pogostosti genotipa *dd*, iz katerega lahko izračunaš pogostost recesivnega alela *d*, ki jo v Hardy-Weinbergovi enačbi označujemo s črko *q*.

Pričakovana pogostost genotipa DD je 0,25 %.

Prostor za izračun:

Podatek iz preglednice 6: pogostost dd = q^2 = 0,91
q = $\sqrt{0,91}$ = 0,95
p = 1 – q = 0,05
Pogostost DD = p^2 = $0,05^2$ = 0,0025 = 0,25 %

25. Raziskovalci so na vzorčnem mestu V ujeli 11 osebkov, med katerimi ni bilo nobenega osebka z genotipom *DD*. Razloži, ali je ob upoštevanju tvoje zgornje ocene pričakovane pogostosti genotipa *DD* v tej populaciji takšen rezultat raziskave presenetljiv.

Po zgornji oceni je v populaciji le 0,25 % osebkov z genotipom DD. To pomeni, da ima le 1 osebek med 400 osebki genotip DD. Zato ni presenetljivo, da med 11 ujetimi osebki ni bilo nobenega z genotipom DD, saj so takšni osebki v populaciji zelo redki in bi morali imeti znanstveniki zelo veliko srečo, da bi med 11 osebki naključno ujeli tudi kakšnega z genotipom DD. Če pa bi na primer ulovili 1000 osebkov iz te populacije, bi lahko pričakovali, da bo med njimi tudi kakšen osebek z genotipom DD.

*Opomba: Naloga na preprost način obravnava problem vzorčenja (velikosti vzorca) – vedno ulovimo le majhen delež osebkov iz celotne populacije. Učitelj lahko problem ponazori tudi z vrečko, v katero bi dali eno rdečo kroglico (osebek z genotipom DD) in 399 črnih kroglic (osebki z genotipom Dd ali dd). Nato bi iz te vrečke naključno izžrebali 11 kroglic (ulov 11 osebkov). Verjetnost, da bi bila med temi 11 kroglicami tudi rdeča kroglica, je zelo majhna (11*1/400 = 0,0275 = 2,75 %).*

26. Temen samec skalne žepne miši, ki živi v populaciji na vzorčnem mestu L, ima očeta s svetlo dlako in mater s temno dlako. Ta samec se pari s samico, ki ima genotip *dd*. Kolikšen delež svetlih in temnih osebkov lahko pričakujemo med njunimi potomci?

Odgovor: *Med njunimi potomci lahko pričakujemo polovico svetlih in polovico temnih osebkov.*

Prostor za izračun:

Oče temnega samca je svetel, torej ima zanesljivo genotip dd. Tako je temen samec lahko samo heterozigot Dd (in ne DD), saj v vsakem primeru od očeta prejme alel d.

Križanje (parjenje) v nalogi je torej Dd (samec) × dd (samica). Dijak za rešitev naloge izdela Punnettov kvadrat.

Oglej si kratek poljudnoznanstveni film o raziskovanju skalne žepne miši z naslovom *The Making of the Fittest: Natural Selection and Adaptation* (*Nastajanje evolucijsko najuspešnejšega: naravni izbor in prilagoditve*). V filmu nastopa tudi vodja ameriške raziskovalne skupine, ki je opravila raziskave populacij skalnih žepnih miši, dr. Mihael Nachman.

Film je dostopen na spletni strani *http://www.hhmi.org/biointeractive/shortfilms/*.

27. Navedi, kaj ti je bilo pri ogledu filma najbolj všeč, in razloži, zakaj.

Opomba: Film je v angleškem jeziku, zato naj učitelj dijakom ustrezno pomaga razumeti vsebino filma. V pomoč je lahko prepis angleškega besedila (glej spletni naslov na začetku tega gradiva – poglavje Gradiva za dijake in učitelje). Učitelj lahko ogled filma umesti tudi na drugo mesto pri obravnavanju snovi in izdela podrobnejša vprašanja o filmu.

V raziskavi, ki smo si jo zgoraj natančneje ogledali, so biologi na vzorčnih mestih V in L ulovili in nato genetsko preučili dokaj majhno število skalnih žepnih miši: 11 osebkov na svetlih kamninah (vzorčno mesto V) in 18 osebkov na temnih kamninah (vzorčno mesto L; glej preglednico 3). Rezultati, ki so jih dobili na temelju teh ulovov, so bili zelo zanimivi (glej sliko 5). V nadaljevanju so svojo raziskavo razširili.

Na vzorčnem mestu L so ponovno postavili pasti in ulovili dodatnih 39 osebkov, tako da so za to populacijo skalnih žepnih miši na temnih vulkanskih kamninah ujeli skupaj 57 osebkov. Pasti so postavili tudi na vzorčnem mestu Z, na svetlih kamninah zahodno od vulkanskih kamnin (glej zemljevid na sliki 4), kjer so ujeli 91 osebkov. Skupaj so genotip in fenotip določili 148 osebkom. Podatki iz te razširjene raziskave so prikazani v preglednici 8.

Preglednica 8: Povezava med genotipom in fenotipom za vse osebke, ujete na vzorčnih mestih Z in L (razširjena raziskava).

		Fenotip		
Kamnine	**Genotip**	**S**	**T**	**Skupaj**
svetle kamnine (mesto Z)	*DD*	0	0	**0**
	Dd	0	5	**5**
	dd	86	0	**86**
	Skupaj	**86**	**5**	**91**
temne kamnine (mesto L)	*DD*	0	44	**44**
	Dd	0	10	**10**
	dd	3	0	**3**
	Skupaj	**3**	**54**	**57**

Oznake fenotipov: S – svetla dlaka, T – temna dlaka.

28. Preglej podatke v preglednici 8 in ugotovi, kateri od 148 osebkov, ujetih na vzorčnih mestih Z in L, niso v skladu z dominantno-recesivnim modelom določanja barve dlake z dominantnim alelom *D* in recesivnim alelom *d*. Pojasni, na kakšen način ti osebki odstopajo od dominantno-recesivnega modela.

Vsi podatki v preglednici brez izjeme ustrezajo dominantno-recesivnemu modelu določanja barve dlake.

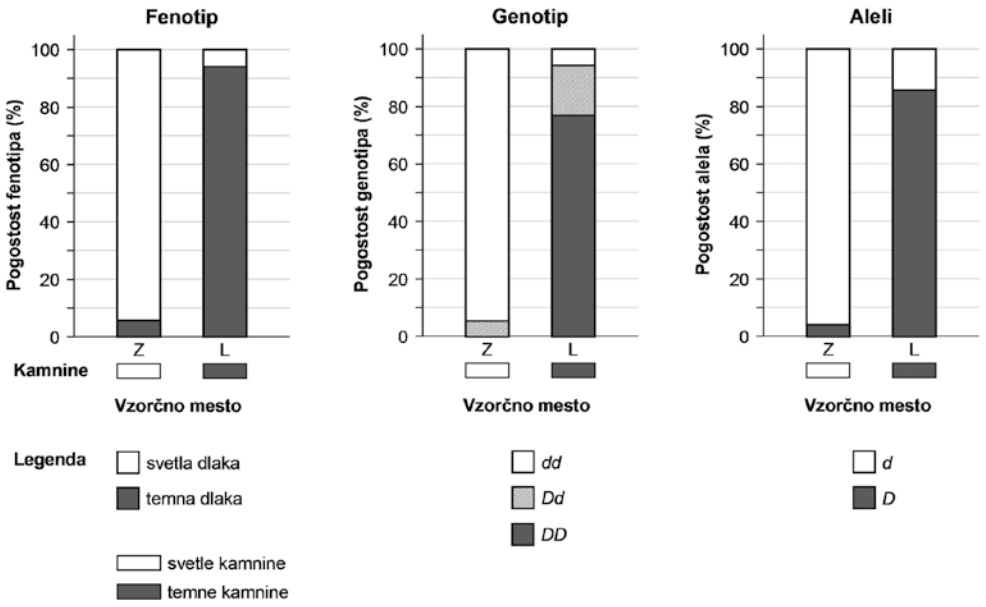
29. Podatke v preglednici 8 ustrezno uredi in izračunaj pogostost (deleže) fenotipov, genotipov in alelov na obeh vzorčnih mestih. Izračunane podatke uporabi za dopolnitev grafov na sliki 5.

Opomba: Dijaki podatke iz preglednice 8 *sami ustrezno uredijo in obdelajo, da lahko nato izdelajo grafe.*

Fenotip: mesto Z – 95 % S, 5 % T; mesto L – 5 % S, 95 % T

Genotip: mesto Z – 0 % DD, 5 % Dd, 95 % dd; mesto L – 77 % DD, 18 % Dd, 5 % dd

Aleli: mesto Z – 3 % D, 97 % d; mesto L – 86 % D, 14 % d



Slika 6: Pogostost fenotipov, genotipov in alelov na vzorčnih mestih Z in L (razširjena raziskava). Podatki so v preglednici 8. Zemljevid vzorčnih mest je prikazan na sliki 4.

30. Primerjaj grafe na slikah 5 in 6. Pojasni, ali so rezultati razširjene raziskave potrdili izsledke prejšnje, manjše raziskave, ali se rezultati obeh raziskav bistveno razlikujejo.

Rezultati obeh raziskav so zelo podobni. Rezultati razširjene raziskave so tako potrdili izsledke prejšnje raziskave.

31. V razširjeni raziskavi so znanstveniki ulovili in preučili več živali, vključili pa so tudi novo vzorčno mesto Z. Pojasni, kakšen je pomen te dopolnitve in razširitve prejšnje raziskave.

Rezultati razširjene raziskave so bolj zanesljivi, ker je bilo vanjo vključenih več živali iz vsake populacije. Znanstveniki so preučili dve populaciji skalnih žepnih miši na svetlih kamninah – na vzorčnih mestih Z in V. Za obe populaciji so dobili podobne rezultate – prevladovali so svetli osebki in recesivni alel d. Takšno preučevanje več populacij, ki živijo v podobnih razmerah v naravi, je podobno ponovitvi poskusa v laboratoriju – če za obe populaciji dobimo podobne rezultate, so zaključki na temelju teh rezultatov bolj zanesljivi, kot če bi preučili samo eno populacijo.

Faza 4

Učinek naravnega izbora

Doslej smo ugotovili, da v ameriški puščavi v populacijah skalne žepne miši na svetlih kamninah prevladujejo svetli osebki in alel *d*, na temnih kamninah pa temni osebki in alel *D*. Ta različna pogostost fenotipov in alelov v genskem skladu populacije je posledica naravnega izbora. Osebki z varovalno barvo (temno barvo na temnih kamninah oziroma svetlo barvo na svetlih kamninah) so namreč za plenilce manj opazni kot osebki z »napačno« barvo. Zato imajo osebki z varovalno barvo večjo verjetnost za preživetje in razmnoževanje kot osebki z »napačno« barvo. Posledično imajo v vsaki generaciji osebki z varovalno barvo v povprečju več potomcev kot osebki z »napačno«, bolj opazno barvo.

Delovanje naravnega izbora je opisal Charles Darwin leta 1859 v knjigi *O nastanku vrst*. Pozneje so znanstveniki ta pojav natančneje preučili v različnih naravnih populacijah in v laboratorijskih poskusih. Ko se je na začetku 20. stoletja v biologiji začelo obdobje genetike, pa so lahko znanstveniki mehanizem delovanja naravnega izbora povezali tudi s pogostostjo genotipov in alelov v populacijah. Na temelju tega znanja so izdelali matematične modele, ki opisujejo delovanje naravnega izbora.

Takšen matematični model naravnega izbora je za primer skalnih žepnih miši na preprost način prikazan v animaciji *Rock Pocket Mice* na spletni strani *http://learn.genetics.utah.edu/content/variation/comparative/*. Na začetku je v opazovani populaciji pogostost obeh fenotipov enaka: polovica osebkov je svetle barve, polovica pa temne. Pri tem imajo osebki z varovalno barvo (temno barvo na temnih kamninah oziroma svetlo barvo na svetlih kamninah) pri preživetju in razmnoževanju 10 % prednost pred osebki z »napačno« barvo telesa. Poženi animacijo tako, da za okolje najprej izbereš temne, nato pa še svetle kamnine. Opazuj, kaj se v obeh primerih dogaja s pogostostjo fenotipov skozi generacije.

32. Opiši, kako se v prikazu v animaciji na svetlih in na temnih kamninah spreminja pogostost fenotipov skozi generacije. Ali se pogostost fenotipov spremeni zelo hitro ali se spreminja postopno skozi mnoge generacije?

    V obeh primerih se pogostost fenotipov spreminja postopno, skozi mnoge generacije. Na svetlih kamninah postopno narašča pogostost svetlih osebkov in pada pogostost temnih osebkov. Na temnih kamninah pa postopno narašča pogostost temnih osebkov in pada pogostost svetlih osebkov.

    Opomba: Učitelj naj bo pozoren na predstavo o tem, da se evolucijske spremembe v pogostosti fenotipov, genotipov in alelov v populaciji dogajajo postopno, *skozi mnoge generacije, ter da je prednost določenega fenotipa oz. alela pred drugim odvisna od razmer v okolju – v tem primeru od barve kamnin.*

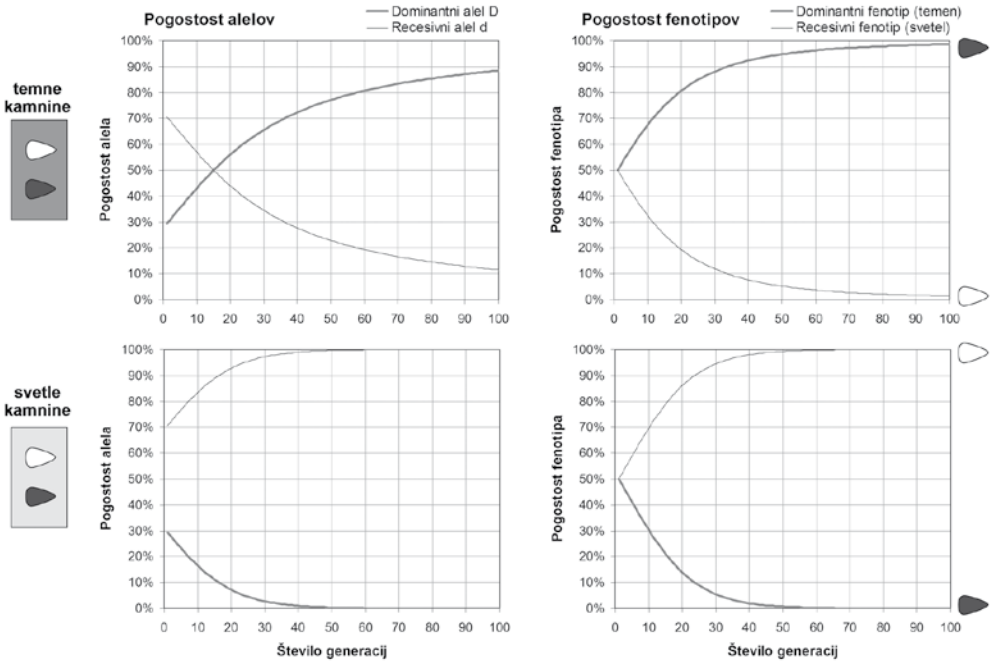
Matematični model naravnega izbora, ki je na poenostavljen način prikazan v animaciji, lahko tudi natančneje opišemo z grafi (sliki 7 in 8). Osnova za matematični model je Hardy-Weinbergova enačba, ki jo dopolnimo z učinki naravnega izbora, tako da osebki z različnim fenotipom nimajo več enake verjetnosti za preživetje in razmnoževanje, temveč imajo osebki z določenim fenotipom večjo verjetnost za preživetje in razmnoževanje kot osebki z drugačnim fenotipom.

33. Na sliki 7 sta prikazani dve populaciji skalnih miši: ena živi na temnih kamninah (zgornja grafa), ena pa na svetlih kamninah (spodnja grafa). Na začetku je v obeh opazovanih populacijah polovica osebkov svetlih, polovica pa temnih (*pogostost vsakega od fenotipov je 50 %*). V obeh populacijah imajo osebki z varovalno barvo

(temno barvo na temnih kamninah oziroma svetlo barvo na svetlih kamninah) pri preživetju in razmnoževanju 10 % prednost pred osebki z »napačno« barvo telesa.

Opiši, ali skozi generacije hitreje narašča pogostost tistega fenotipa, ki je v prednosti, na svetlih ali na temnih kamninah? Kako si to razlagaš?

Na svetlih kamninah, kjer so v prednosti svetli osebki, se pogostost svetlih osebkov povečuje hitreje kot se povečuje pogostost prednostnih temnih osebkov na temnih kamninah. Na svetlih kamninah ima tako 80 % osebkov varovalno svetlo barvo že po približno 15 generacijah, na temnih kamninah pa ima 80 % osebkov varovalno temno barvo šele po 20 generacijah. Spreminjanje pogostosti fenotipov je hitrejše na svetlih kamninah, kjer se iz populacije izločajo temni osebki. Temni osebki imajo lahko genotip DD ali Dd. Tako naravni izbor izloča tudi tiste osebke, ki nosijo le en »škodljivi« alel D. Drugače pa je na temnih kamninah, kjer naravni izbor izloča svetle osebke z genotipom dd. Toda tisti temni osebki, ki imajo genotip Dd, so tudi nosilci (prenašalci) enega »škodljivega« alela d, vendar se zaradi temnega fenotipa iz populacije ne izločajo. Četrtina potomcev parjenja Dd × Dd so svetli mladiči dd. Tako se z ohranjanjem v heterozigotih Dd »škodljivi« alel d na temnih kamninah z naravnim izborom počasneje izloča iz populacije, počasneje pa pada tudi pogostost svetlega fenotipa.



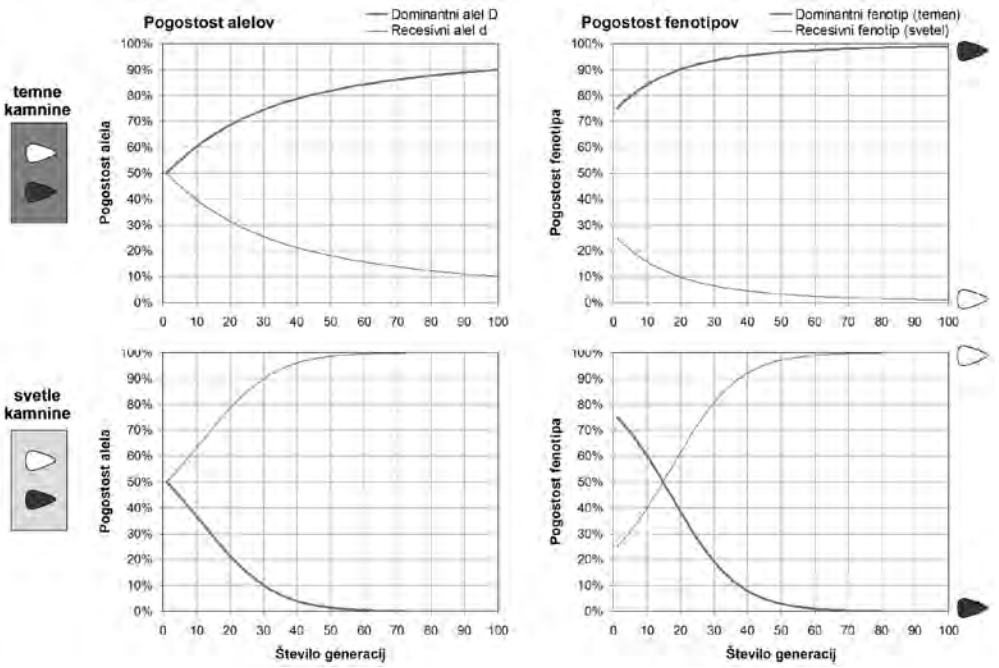
Slika 7: Učinek naravnega izbora skozi 100 generacij skalnih žepnih miši v populacijah na svetlih in temnih kamninah. V obeh populacijah je *na začetku enako število svetlih in temnih osebkov* (pogostost vsakega od fenotipov je 50 %). V obeh populacijah imajo osebki z varovalno barvo pri preživetju in razmnoževanju 10 % prednost pred osebki z »napačno« barvo telesa.

34. Na sliki 8 sta podobno kot na sliki 7 prikazani dve populaciji skalnih miši. Vendar pa je tokrat na začetku v obeh opazovanih populacijah enaka pogostost alela *D* in alela *d* (*pogostost vsakega od alelov je 50 %*). Tako kot prej imajo v obeh populacijah osebki z varovalno barvo pri preživetju in razmnoževanju 10 % prednost pred osebki z »napačno« barvo telesa.

Primerjaj grafe na slikah 7 in 8. Ali tudi tu opaziš razliko med populacijama v hitrosti delovanja naravnega izbora? Opiši, kako hitro skozi generacije narašča pogostost tistega alela, ki je v prednosti, na svetlih ali na temnih kamninah? Kako si to razlagaš?

Podobno kot v prejšnjem primeru se na temnih kamninah »škodljivi« recesivni alel d izloča iz populacije počasneje kot se izloča iz populacije na svetlih kamninah »škodljivi« dominantni alel D. Tako na primer na svetlih kamninah pogostost koristnega alela d doseže 90 % po približno 30 generacijah, na temnih kamninah pa doseže pogostost koristnega alela D 90 % šele po približno 100 generacijah. Razlaga za to razliko v hitrosti izločanja škodljivega alela iz populacije je enaka kot pri prejšnjem vprašanju. Naravni izbor vedno iz populacije hitreje izloča škodljivi dominantni alel kot pa škodljivi recesivni alel, ker se slednji ohranja v heterozigotih s koristnim fenotipom.

Opomba: Učitelj lahko za ponazoritev delovanja naravnega izbora ob različnih začetnih parametrih in ob različno močni selekciji (različni prednosti koristnega fenotipa pred škodljivim fenotipom) uporabi tudi grafe v datoteki formata MS Excel. Spletni naslovi, na katerih je ta datoteka dostopna, so navedeni na začetku tega gradiva v poglavju Gradiva za dijake in učitelje. Grafi na slikah 7 in 8 so bili izdelani s pomočjo te datoteke.



Slika 8: Učinek naravnega izbora skozi 100 generacij skalnih žepnih miši v populacijah na svetlih in temnih kamninah. V obeh populacijah sta *na začetku enaka pogostost alela D in alela d* (pogostost vsakega od alelov je 50 %). V obeh populacijah imajo osebki z varovalno barvo (temno barvo na temnih kamninah oziroma svetlo barvo na svetlih kamninah) pri preživetju in razmnoževanju 10 % prednost pred osebki z »napačno« barvo telesa.

V populacijah skalnih žepnih miši je evolucijsko izvorna svetla barva dlake, torej je evolucijsko izvoren alel *d*. Alel *D*, ki omogoča nastanek temne dlake, se je v populacijah pojavil kasneje kot posledica mutacij. Postavi se vprašanje, ali je nastanek ustrezne mutacije za temno dlako izjemno redek dogodek. Kako pogosto z mutacijami v populacijah skalne miši nastane alel, ki omogoča nastanek temne dlake? To bomo poskušali okvirno oceniti v naslednji nalogi, v kateri bomo uporabili podatke iz znanstvenih raziskav.

35. Znanstveniki ocenjujejo, da se v populacijah skalne žepne miši nov alel za temno dlako kot posledica mutacij pojavi v 1 od 25 milijonov mladičev. Predstavljaj si, da v neki populaciji skalnih miši živi 5000 odraslih samic in 5000 odraslih samcev. Samice skotijo mladiče enkrat na leto, povprečno pa je v leglu 5 mladičev. Izračunaj, koliko mladičev se vsako leto skoti v tej populaciji.

Vsako leto se skoti *25 000* mladičev.
5000 samic × 5 mladičev = 25 000 mladičev na leto

Na temelju zgornjih podatkov izračunaj, na koliko let v povprečju v tej populaciji nastane nova mutacija za temno dlako.

Nova mutacija za temno dlako v povprečju nastane vsakih *1000* let.
25 000 000 mladičev / 25 000 mladičev na leto = 1000 let

Največja starost vulkanskih kamnin v puščavi je okoli 1,7 milijona let. Različni podatki kažejo, da so se v tem obdobju najverjetneje skalne žepne miši že naselile v puščavi. Izračunaj, kolikokrat je v preučevani populaciji lahko nastala nova mutacija za temno dlako v obdobju od nastanka prvih temnih kamnin pred 1,7 milijona let.

Nova mutacija za temno dlako bi lahko v tej populaciji nastala *1700*-krat.
1 700 000 let / 1000 let = 1 700

36. Nekateri ljudje trdijo, da je evolucija naključni proces. Ali se s to trditvijo strinjaš? Utemelji svoj odgovor.

Evolucija ni naključni proces, temveč je soigra naključnega procesa (nastajanja mutacij) in nenaključnega procesa (naravnega izbora). Naravni izbor je na nek način »usmerjen« proces, ker med obstoječimi fenotipi oziroma aleli v populaciji izbira tiste, ki so v danem okolju najbolj »koristni« (osebki z različnim fenotipom imajo različno verjetnost za uspešno preživetje in razmnoževanje, torej ne gre za povsem »naključno« izbiranje osebkov). Vendar pa se okolje za organizme neprestano spreminja, od podnebnih sprememb, vulkanskih izbruhov in padcev asteroidov do priselitve novih plenilcev ali novih povzročiteljev bolezni v ekosistem. Tako naravni izbor glede na trenutne razmere v okolju lahko deluje v eno ali v drugo smer. Na svetlih kamninah na primer izloča temne osebke, ohranja pa svetle osebke, na temnih kamninah pa je koristna lastnost temna dlaka, škodljiva pa svetla dlaka. Dolgoročno tako naravni izbor ne deluje v smeri nekega določenega cilja.

Opomba: Predstava, da je evolucija naključni proces, je pogosta napačna predstava. Učitelj naj bo pozoren na predstave dijakov o tem problemu. Ravno tako je napačna predstava, da je evolucija proces, načrtno usmerjen ki določenemu cilju, na primer ustvarjanju popolnih organizmov.

Ocena pogostosti mutacije za temno dlako:
1 od 25 milijonov mladičev ima novo mutacijo za temno dlako
Velikost populacije: 5000 samic
Število mladičev v leglu: povprečno 5 mladičev
Število mladičev v populaciji vsako leto:
5000 samic x 5 mladičev = 25 000 mladičev na leto
25 000 000 mladičev / 25 000 mladičev na leto = 1000 let
Nova mutacija za temno dlako nastane v populaciji povprečno vsakih 1000 let.
Največja starost temnih vulkanskih kamnin: 1,7 milijona let
Verjetna priselitev skalnih žepnih miši na širše območje:
približno v času nastanka prvih temnih kamnin
1 700 000 let / 1000 let = 1 700
Nova mutacija za temno dlako bi v tej populacija lahko nastala 1700-krat.

Faza 5

Primerjava alelov gena *Mc1r*

Barvila, ki obarvajo dlako, nastajajo v specializiranih celicah v koži (melanocitah). Za barvo dlake je odločilno, koliko barvil proizvajajo te celice. Pri tem je predvsem pomembna količina proizvedenega temnega barvila (rjavega ali črnega evmelanina) in svetlega barvila (rumenega ali rdečega feomelanina).

Pri sesalcih je v določanje barve dlake vpletenih več genov. Pri svetlih in temnih osebkih iz populacij skalne žepne miši v Arizoni (območje Pinacate) so znanstveniki določili zaporedje nukleotidov v več genih, ki so vpleteni v določitev barve pri sesalcih. Nato so iskali povezave med različicami (aleli) teh genov in barvo dlake. Ugotovili so, da v teh populacijah obstajata dve različici (alela) gena *Mc1r*, ki so ju poimenovali *D* in *d*. Alel *D* je dominantni alel, alel *d* pa recesivni alel. Osebki z genotipom *DD* ali *Dd* imajo temno dlako, recesivni homozigoti *dd* pa svetlo dlako.

V genu *Mc1r* je zapisana zgradba beljakovine MC1R (poimenovanje po angleških začetnicah *melanocortin-1-receptor* – melanokortin-1-receptor), ki sodeluje pri izgradnji barvil v melanocitah.

Gen *Mc1r* pri skalni žepni miši vsebuje 954 nukleotidov, pri čemer je na začetku zapisana aminokislina metionin, kar je hkrati start-kodon, na koncu pa je stop-kodon, ki ne zapisuje aminokisline. Gen nima intronov.

37. Izračunaj, koliko aminokislin vsebuje beljakovina, katere zgradba je zapisana v genu *Mc1r*.

Beljakovina MC1R vsebuje 317 aminokislin.

Prostor za izračun:

954 – 3 = 951 (odštejemo stop-kodon)
951 : 3 = 317

Znanstveniki so ugotovili, da se alela *D* in *d* gena *Mc1r* razlikujeta po štirih točkovnih mutacijah (zamenjavah nukleotidov). V preglednici 9 so prikazani trojčki nukleotidov v molekulah mRNA za ta štiri mesta. V populacijah skalne žepne miši je alel *d* evolucijsko izvorni alel, iz katerega je z mutacijami nastal alel *D*.

38. V vsakem polju v vrsticah *Trojček nukleotidov* obkroži nukleotid, po katerem se oba alela razlikujeta. Obkroži tudi zaporedno številko tega nukleotida v prvi vrstici preglednice.

39. Dopolni preglednico:

V vrstico *Aminokislina* zapiši ime in tričrkovno oznako aminokisline, ki ustreza trojčku nukleotidov (primer: *levcin (Leu)*). Pri določanju ustrezne aminokisline uporabi preglednico genetskega koda, ki prikazuje, kateri trojčki nukleotidov v mRNA ustrezajo določeni aminokislini.

Iz sheme, ki prikazuje zgradbo in lastnosti aminokislin, ugotovi, kakšne lastnosti ima stranska skupina posamezne aminokisline, in te lastnosti vpiši v vrstico *Lastnosti aminokisline*. Uporabi naslednje oznake (pobarvaj polja z ustreznimi barvicami):

Lastnosti aminokisline	nepolarna ○	polarna ○	kisla –	bazična +
Barvna oznaka	RUMENA	MODRA	ORANŽNA	RDEČA

Oznake za naboj: ○ brez naboja, - negativni naboj, + pozitivni naboj

V preglednici 9 z ustrezno barvico pobarvaj polja, ki opisujejo lastnosti vsake aminokisline (polja v vrsticah *Aminokislina* in *Lastnosti aminokisline*).

Preglednica 9: Primerjava alelov *D* in *d* gena *Mc1r* v populacijah skalne žepne miši na območju Pinacate v Arizoni, ZDA.

	Zaporedna št. nukleotidov	52, 53, 54	325, 326, 327	478, 479, 480	697, 698, 699
	Zaporedna št. aminokisline	**18**	**109**	**160**	**233**
Alel *D* (mutirani alel)	**Trojček nukleotidov**	**UGC**	**UGG**	**UGG**	**CAC**
	Aminokislina	cistein (Cys)	**triptofan (Trp)**	**triptofan (Trp)**	**histidin (His)**
	Lastnosti aminokisline	polarna ○	nepolarna ○	nepolarna ○	bazična +
Alel *d* (izvorni alel)	**Trojček nukleotidov**	**CGC**	**CGG**	**CGG**	**CAA**
	Aminokislina	arginin (Arg)	arginin (Arg)	arginin (Arg)	glutamin (Gln)
	Lastnosti aminokisline	bazična +	bazična +	bazična +	polarna ○

40. Na podlagi podatkov v preglednici 9 opiši, kakšne so posledice štirih točkovnih mutacij, po katerih se razlikujeta alela *D* in *d*. Ali vse štiri mutacije povzročijo zamenjavo aminokislin v beljakovini MC1R? Ali so si pari zamenjanih aminokislin po kemijski zgradbi in lastnostih podobni ali se močno razlikujejo med seboj?

Vse štiri točkovne mutacije povzročijo zamenjavo aminokisline. Pri tem se lastnosti zamenjanih aminokislin precej razlikujejo od izvornih aminokislin. V dveh primerih se aminokislina s pozitivno nabito stransko skupino zamenja z aminokislino z nepolarno nenabito stransko skupino. Ena mutacija povzroči zamenjavo pozitivno nabite aminokisline z nenabito polarno aminokislino. Ena mutacija pa povzroči zamenjavo polarne nenabite aminokisline s pozitivno nabito aminokislino.

41. V alelu *d* je 18. aminokislina v molekuli mRNA zapisana kot trojček CGC. Ugotovi, ali za ta trojček obstajajo točkovne mutacije (zamenjave enega nukleotida v trojčku), ki ne bi povzročile zamenjave aminokisline v beljakovini MC1R. Če takšne točkovne mutacije obstajajo, napiši ustrezne »mutirane« trojčke.

*Obstajajo tri takšne nevtralne mutacije: CG**U**, CG**A** in CG**G**.*

42. Na sliki 9 je prikazano zaporedje nukleotidov v mRNA gena *Mc1r* in ustreznih aminokislin v beljakovini MC1R. V vsaki vrstici je 60 nukleotidov in 20 aminokislin (glej zaporedne številke na koncu vsake vrstice). Označena so tudi štiri mesta točkovnih mutacij, po katerih se razlikujeta alela *D* in *d*. Na podlagi podatkov v preglednici 9 dopolni sliko. Za vsako od štirih mest napiši ustrezen nukleotid in tričrkovno oznako aminokisline. Polja tudi ustrezno pobarvaj glede na kemijske lastnosti aminokisline (uporabi enake barve kot v preglednici 9).

Glej sliko 9.

Zgornja vrstica: nukleotidi v mRNA
Spodnja vrstica: aminokisline v beljakovini

	Alel *D*	Alel *d*
*	U	C
Xxx	Cys	Arg

```
AUGCCCAUGCAGGAGCCCCAGAGGAGGCUA CUGGGUCCUUUCAACUCCACC*GCACAGGC   60
MetProMetGlnGluProGlnArgArgLeu LeuGlyProPheAsnSerThrXxxThrGly   20

GUUCCUCACCUCGAGCUAUCUGCCAACCAG ACUGGACCCUGGUGCCUGCACGUAUCCAUC  120
ValProHisLeuGluLeuSerAlaAsnGln ThrGlyProTrpCysLeuHisValSerIle   40

CCAGAUGGCCUCUUCCUCAGCCUGGGGCUG GUGAGCUUGGUGGAAAAUGUGCUGGUGGUG  180
ProAspGlyLeuPheLeuSerLeuGlyLeu ValSerLeuValGluAsnValLeuValVal   60

AUUUCCAUUGCCAAGAACCAAAACCUGCAU UCCCCCAUGUACUACUUCAUCUGCUGCCUG  240
IleSerIleAlaLysAsnGlnAsnLeuHis SerProMetTyrTyrPheIleCysCysLeu   80
```

	Alel *D*	Alel *d*
*	U	C
Xxx	Trp	Arg

```
GCUUUGUCUGACCUGCUUGUGAGUGUGAGC AUUGUGCUGGAGACCACUCUCAUCUUGGUG  300
AlaLeuSerAspLeuLeuValSerValSer IleValLeuGluThrThrLeuIleLeuVal  100

CUAGAGGCAGGGGCCCUGGCCACC*GGGUG ACUGUGGUACAGCAGCUGGACAAUGUCAUC  360
LeuGluAlaGlyAlaLeuAlaThrXxxVal ThrValValGlnGlnLeuAspAsnValIle  120
```

	Alel *D*	Alel *d*
*	U	C
Xxx	Trp	Arg

```
GACGUGCUCAUCUGUGGCUCCAUGGUCUCA AGUCUGUGCUUCCUCGGAGCCAUCGCUGUG  420
AspValLeuIleCysGlySerMetValSer SerLeuCysPheLeuGlyAlaIleAlaVal  140

GACCGGUACAUCUCCAUCUUCUAUGCACUG CGCUAUCACAGUAUUGUGACACUGCCC*GG  480
AspArgTyrIleSerIlePheTyrAlaLeu ArgTyrHisSerIleValThrLeuProXxx  160
```

	Alel *D*	Alel *d*
*	C	A
Xxx	His	Gln

```
GCUCGGUGGGCCAUCGUGGCCAUCUGGGUA GCCAGCAUCUCUUCCAGCACUCUUUUUGUU  540
AlaArgTrpAlaIleValAlaIleTrpVal AlaSerIleSerSerSerThrLeuPheVal  180

GCCUACUACAACCACACAGCGGUCCUGCUU UGUCUCGUCACCUUUUUUCUAGCCACGCUG  600
AlaTyrTyrAsnHisThrAlaValLeuLeu CysLeuValThrPhePheLeuAlaThrLeu  200

GCACUCAUGGUAGUUCUGUAUGUGCACAUG CUCGCACGGGCACACCAGCAUGCUCAGGCC  660
AlaLeuMetValValLeuTyrValHisMet LeuAlaArgAlaHisGlnHisAlaGlnAla  220

AUUGCUCAGCUCCACAAGAGACAGCACCUU GUCCACCA*GGUUUCCGACUCAAAGGCGCU  720
IleAlaGlnLeuHisLysArgGlnHisLeu ValHisXxxGlyPheArgLeuLysGlyAla  240

GCCACCCUCACUAUCCUCUUGGGCAUUUUC UUCCUGUGCUGGGGCCCCUUCUUCCUGUAC  780
AlaThrLeuThrIleLeuLeuGlyIlePhe PheLeuCysTrpGlyProPhePheLeuTyr  260

CUCACUCUCAUCGUCCUCUGCCCGAAGCAC CCUACCUGCGGCUGUUUCUUCAAGAACCUC  840
LeuThrLeuIleValLeuCysProLysHis ProThrCysGlyCysPhePheLysAsnLeu  280

AAUCUCUUCCUUGCCCUCAUCAUCUUCAAC UCCAUUGUUGACCCCCUCAUCUAUGCCUUC  900
AsnLeuPheLeuAlaLeuIleIlePheAsn SerIleValAspProLeuIleTyrAlaPhe  300
```

Slika 9: Zaporedje nukleotidov v mRNA gena *Mc1r* in ustreznih aminokislin v beljakovini MC1R.

43. Veliko ljudi je prepričanih, da so vse mutacije vedno škodljive. Na primeru skalne žepne miši razloži, zakaj je takšno prepričanje napačno. V odgovoru razloži, zakaj je mutacija gena *Mc1r* iz alela *d* v alel *D* lahko v določenih okoliščinah koristna za osebek, ki je nosilec te mutacije, v drugih pa škodljiva.

Koristnost oziroma škodljivost določene mutacije je odvisna od okolja, v katerem se osebek nahaja. Na svetlih kamninah je mutacija, ki spremeni barvo dlake iz svetle v temno, za osebek škodljiva, saj je bolj viden za plenilce kot svetli osebki. Toda na temnih kamninah je ista mutacija za osebek koristna – temen osebek je na temni podlagi manj opazen za plenilce in ima tako večjo verjetnost za preživetje kot svetli osebki.

44. Prepričanje mnogih ljudi o splošni škodljivosti mutacij verjetno izhaja iz poudarjanja škodljivih učinkov mutagenih dejavnikov (npr. radioaktivnega sevanja, nekaterih strupov, ki jih v okolje spušča človek). Takšnim mutacijam v biologiji pravimo povzročene mutacije. Toda v resnici so v naravi najpogostejše tako imenovane spontane mutacije. Pojasni, pri katerem procesu nastajajo spontane mutacije.

Spontane mutacije nastajajo med podvojevanjem molekul DNA, ko se celica pripravlja na delitev. Proces podvojevanja DNA namreč ni popolnoma natančen. (Med podvojevanjem nastajajo napake, na primer zamenjave nukleotidov. Del teh napak celica sicer popravi, vendar pa del napak ostane nepopravljen, in to so spontane mutacije.)

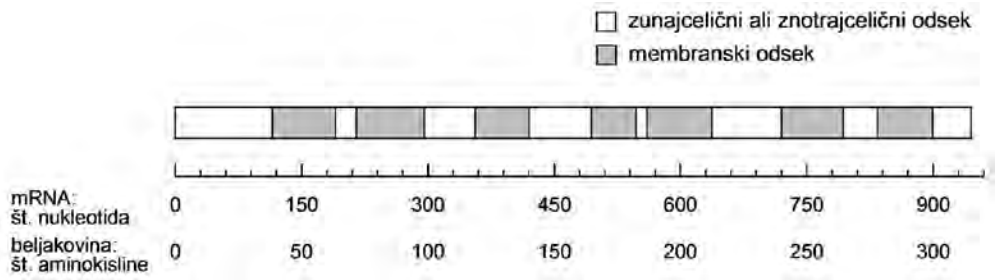
Znanstvenike je seveda zanimalo, kakšne bi lahko bile posledice štirih točkovnih mutacij za delovanje beljakovine MC1R. Tako bi morda lahko razložili, kako sprememba v tej beljakovini povzroči spremembo barve dlake. Pri tem so se oprli na obstoječe rezultate raziskav in razlage o delovanju beljakovine MC1R pri drugih sesalcih, ki so jih prej objavili drugi znanstveniki.

Beljakovina MC1R je nameščena v celični membrani specializiranih kožnih celic (melanocit), ki izdelujejo barvila. Melanocite najdemo tudi v dlačnem mešičku – tu izdelana barvila določajo barvo dlake. Beljakovina MC1R je membranska sprejemna beljakovina (membranski receptor), ki posreduje signal iz zunanjosti v notranjost celice. Najprej si oglejmo njeno zgradbo.

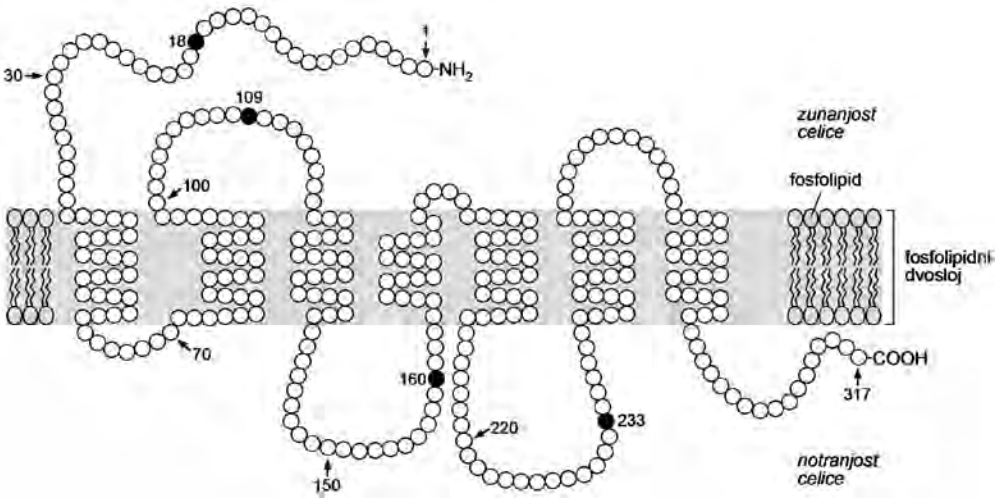
Dvodimenzionalna zgradba beljakovine MC1R je prikazana na sliki 11. Veriga 317 aminokislin sedemkrat prečka celično membrano. Znotraj fosfolipidnega dvosloja je veriga aminokislin urejena v a-vijačnice, povezane med seboj z različno dolgimi zankami, ki segajo iz fosfolipidnega dvosloja v zunajcelični in v znotrajcelični prostor. Beljakovina seveda ni dvodimenzionalna – model njene tridimenzionalne oblike je prikazan na sliki 12. Sedem membranskih α-vijačnic je urejenih v valjasto, sodčasto obliko, iz katere na vsako stran membrane moli več zank. Dolžina sedmih membranskih in osmih zunajmembranskih odsekov je shematično prikazana na sliki 10.

45. Na sliki 11 črno pobarvaj tiste aminokisline, po katerih se razlikujeta beljakovini, ki nastaneta na temelju alela *D* in alela *d*. Zaporedne številke aminokislin, ki so zaradi mutacij spremenjene, najdeš v preglednici 9. Na sliki so s puščicami označene zaporedne številke nekaterih aminokislin (od 1 do 317), kar ti bo v pomoč pri določanju zaradi mutacij spremenjenih aminokislin. Ob vsaki spremenjeni aminokislini zapiši tudi njeno zaporedno številko. Opiši, kje v beljakovini MC1R se nahajajo štiri zaradi mutacij spremenjene aminokisline.

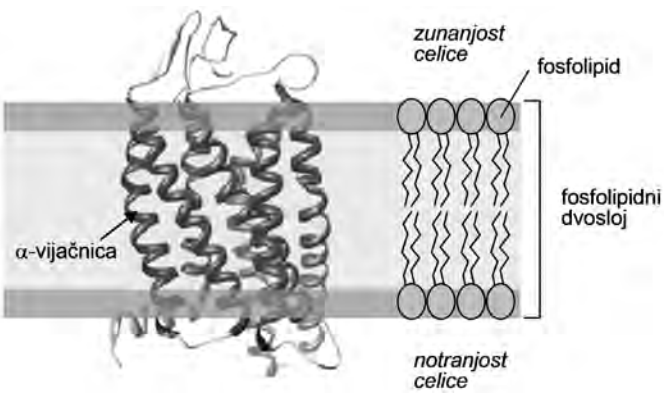
Dve aminokislini spremenjeni zaradi mutacij (18. in 109. aminokislina) se nahajata na zunajceličnih zankah, dve spremenjeni aminokislini (160. in 233. aminokislina) pa na znotrajceličnih zankah.



Slika 10: Membranski in nemembranski odseki v mRNA gena *Mc1r* in v beljakovini MC1R.



Slika 11: Dvodimenzionalni model zgradbe beljakovine MC1R.

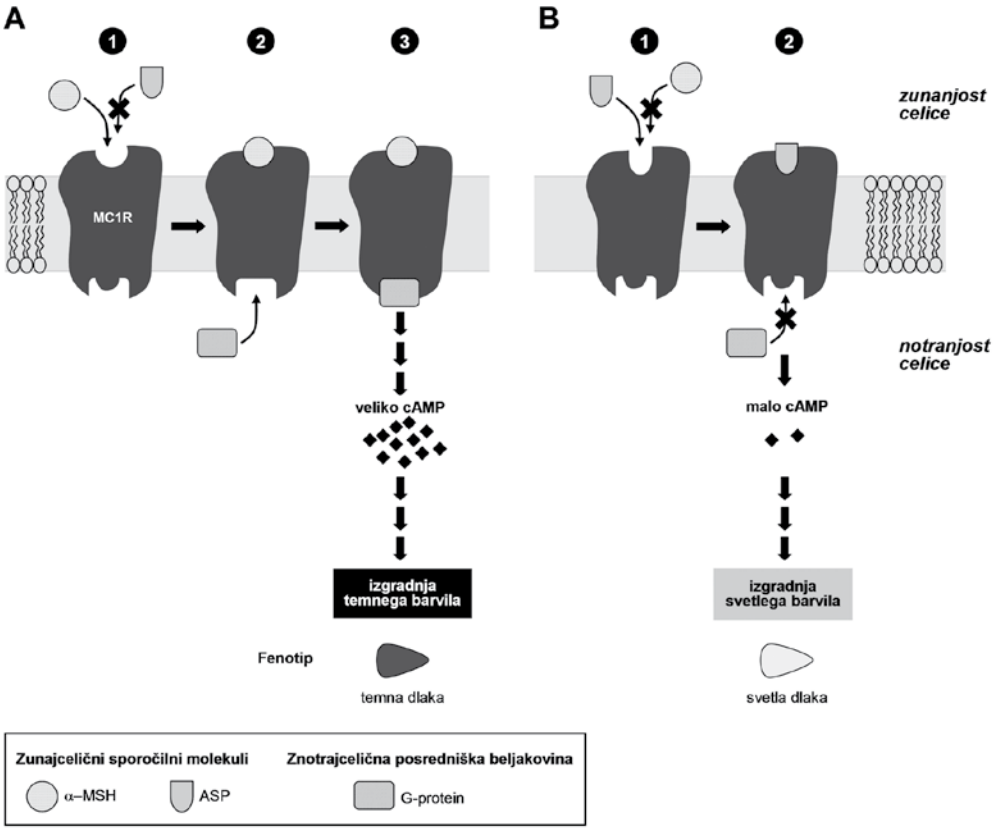


Slika 12: Tridimenzionalni model zgradbe beljakovine MC1R. (Slika prirejena po *http://mutagenetix.utsouthwestern.edu/phenotypic/phenotypic_rec.cfm?pk=641*)

Beljakovina MC1R pri različnih vrstah sesalcev, tudi pri človeku, deluje kot nekakšno celično stikalo, ki v celicah v dlačnih mešičkih (melanocitah) preklaplja med izgradnjo temnega barvila (evmelanina) in izgradnjo svetlega barvila (feomelanina). Poenostavljen model delovanja beljakovine MC1R je prikazan na sliki 13. Če se na zunajcelično vezavno mesto na beljakovini MC1R veže sporočilna molekula α-MSH (slika 12A-1), to povzroči spremembo oblike beljakovine, vključno s spremembo vezavnega mesta v notranjosti celice. Na vezavno mesto v notranjosti celice se zdaj lahko veže posebna beljakovina G-protein (slika 12A-2), ki aktivira druge beljakovine v celici in s tem sproži izgradnjo molekul ciklič-

nega AMP (cAMP). cAMP deluje kot znotrajcelična sporočilna molekula, ki v melanocitah sproži izgradnjo in kopičenje temnega barvila (slika 12A-3). Rastoča dlaka je zaradi tega temne barve.

Če pa se na zunajcelično vezavno mesto na beljakovini MC1R veže druga sporočilna molekula ASP (slika 12B-1), to ne omogoči vezave G-proteina na znotrajcelično vezavno mesto, zato je v celici malo cAMP (slika 12B-2), celica proizvaja svetlo barvilo in rastoča dlaka je svetle barve.



Slika 13: Poenostavljen model delovanja beljakovine MC1R pri določanju barve dlake. Beljakovina MC1R je nameščena v celični membrani posebnih celic v dlačnem mešičku (melanocit), ki izgrajujejo svetlo ali temno barvilo in s tem določajo barvo dlake.

46. Pri skalni žepni miši alel *d* določa svetlo dlako, alel *D* pa temno dlako. Na temelju svojih ugotovitev o mestu štirih zaradi mutacij spremenjenih aminokislin (glej sliko 10) in poenostavljenega modela delovanja beljakovine MC1R na sliki 12 razloži, na kakšen način bi lahko mutacije spremenile delovanje beljakovine MC1R, tako da se v celici namesto svetlega barvila (alel *d*) kopiči temno barvilo (alel *D*).

Spremenjene aminokisline se nahajajo na zunajceličnem in znotrajceličnem delu beljakovine MC1R. Tako bi lahko na primer spremembe na zunajceličnem delu beljakovine povzročile takšno spremembo vezavnega mesta, da bi se namesto molekule ASP vezala molekula α-MSH, kar bi omogočilo vezavo G-proteina in s tem preklop na izgradnjo temnega barvila. Sprememba aminokislin na znotrajceličnem delu beljakovine MC1R pa bi lahko na primer povzročila, da bi se vezavno mesto za G-protein spremenilo na takšen način, da bi se G-protein vezal na beljakovino MC1R ne glede na to, ali je na zunanje dele vezana kakšna sporočila molekula ali ne. Tako bi se temno barvilo izgrajevalo ves čas rasti dlake in dlaka bi bila temna.

Opomba: Dijaki lahko predlagajo različne možne posledice mutacij za delovanje beljakovine MC1R v skladu s svojim znanjem. Razmišljajo naj o tem, da zaradi mutacij spremenjene aminokisline vplivajo na tridimenzionalno obliko zunajceličnih in znotrajceličnih delov beljakovine MC1R in s tem lahko spremenijo njeno delovanje (spremenjena vezava molekul na beljakovino MC1R zunaj in znotraj celice). Učitelj naj opozori, da bi lahko preverili, katera od možnih razlag (hipotez) je pravilna, le z laboratorijskimi poskusi. Znanstveniki za zdaj takšnih poskusov niso izvedli.

47. Pri skalni žepni miši imajo tako homozigoti *DD* kot tudi heterozigoti *Dd* temno dlako. Razloži, kako bi lahko že prisotnost enega samega alela *D* v celici povzročila, da je barva rastoče dlake temna in ne svetla ali srednje temna.

Celica z genotipom Dd ima v membrani dve različici beljakovine MC1R – izvorno (alel d) in mutirano (alel D). Verjetno ima približno polovica beljakovin MC1R v membrani izvorno obliko, polovica pa mutirano. Izvorna različica ne sproži izgradnje cAMP v celici. Pač pa mutirana oblika sproži izgradnjo cAMP. Najverjetneje že polovica prisotnih mutiranih beljakovin MC1R v membrani povzroči v celici dovolj velik dvig koncentracije cAMP, da se izgradnja barvil preklopi iz izgradnje svetlih barvil na izgradnjo temnih barvil.

Faza 6

Objava rezultatov raziskave

Znanstveniki rezultate svojih raziskav objavljajo v znanstvenih člankih v znanstvenih revijah. Znanstvene članke napišejo znanstveniki in so namenjeni drugim znanstvenikom, zato so napisani v strokovnem, znanstvenem jeziku.

Večina podatkov, ki smo jih uporabili pri dosedanjih nalogah, je iz naslednjega znanstvenega članka, ki ga je objavila raziskovalna skupina dr. Michaela Nachmana:

> *Nachman, M.W., Hoekstra, H.E., D'Agostino, S.L. (2003). The genetic basis of adaptive melanism in pocket mice. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 100: 5268–5273.*

Ta znanstveni članek je bil objavljen v znanstveni reviji *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. Naslov te revije pogosto krajšamo v kratico *PNAS*.

48. Poišči zgornji znanstveni članek (datoteka v formatu pdf) na svetovnem spletu, kjer je javno dostopen. (Če članka ne boš mogel najti, si ga lahko ogledaš na tem spletnem naslovu: *http://www.pnas.org/content/100/9/5268.full.pdf*). Oglej si ta znanstveni članek. Lahko poskusiš tudi prebrati dele besedila.

V sodobni znanosti znanstveniki iz različnih držav večinoma objavljajo rezultate svojih raziskav v **angleškem jeziku**. Tako je mogoča izmenjava rezultatov raziskav, znanstvenih zaključkov in razlag v mednarodni znanstveni skupnosti.

Za pisanje znanstvenih člankov veljajo posebna pravila. Znanstveni članek se začne z **naslovom članka**, sledijo **imena avtorjev** članka (znanstvenikov, ki so opravili raziskavo in napisali članek) in **imena ustanov**, kjer ti znanstveniki delajo.

Prvi del besedila znanstvenega članka je **izvleček** (angl. *abstract*), v katerem je na kratko opisana vsebina članka. Sledi **uvod** (angl. *introduction*), v katerem avtorji opišejo znanstveni problem, ki ga obravnava njihova raziskava. Navedejo tudi, kaj je bilo o tem problemu že prej znanega – kaj so o tem že objavili drugi znanstveniki v znanstvenih člankih. Opišejo namen svoje raziskave ter postavijo ustrezno znanstveno vprašanje ali hipotezo.

Naslednji del besedila je poglavje **materiali in metode** (angl. *materials and methods*). Tu znanstveniki natančno opišejo, kako so izvedli svojo raziskavo (npr. opazovanja v naravi, laboratorijske poskuse) in kakšne metode so pri tem uporabili. Opis mora biti dovolj natančen, da lahko drugi znanstveniki to raziskavo ponovijo, če to želijo.

Sledi poglavje **rezultati** (angl. *results*), nato pa poglavje **razprava** (angl. *discussion*). Obe poglavji sta lahko tudi združeni v skupno poglavje, kar je primer tudi v pričujočem znanstvenem članku o skalnih žepnih miših. V poglavju rezultati znanstveniki natančno opišejo rezultate svoje raziskave, ki jih običajno prikažejo tudi v preglednicah, grafih, shemah in fotografijah. V poglavju razprava pa znanstveniki na temelju opisanih rezultatov navedejo svoje zaključke, na primer ali so rezultati podprli njihovo hipotezo, kakšno znanstveno razlago za opazovani naravni pojav lahko postavimo na temelju rezultatov. Svoje zaključke tudi primerjajo z zaključki in razlagami v predhodnih znanstvenih člankih.

Na koncu besedila znanstvenega članka je običajno **zahvala** (angl. *acknowledgement*), v kateri se avtorji zahvalijo osebam, ki so poleg avtorjev pomagale pri izvedbi raziskave, in ustanovam, ki so prispevale finančna sredstva za izvedbo raziskave. Čisto na koncu pa je obvezno seznam uporabljenih **virov** (angl. *references*) – znanstvenih člankov in druge znanstvene literature, na katero so se znanstveniki med raziskavo opirali. Te vire morajo znanstveniki tudi obvezno citirati v besedilu članka.

49. V znanstvenem članku o skalnih žepnih miših iz znanstvene revije *PNAS* poišči zgoraj navedene dele znanstvenega članka in si jih oglej.

50. V delovnih listih smo uporabili podatke iz znanstvenega članka v znanstveni reviji *PNAS*. Primerjaj naslednje dele delovnih listov in znanstvenega članka:
    - preglednico 2 v delovnih listih in *Table 1* v članku (stran 5270 v članku),
    - izpolnjeno preglednico 4 v delovnih listih in *Table 2* v članku (stran 5271),
    - sliki 8 in 9 v delovnih listih in *Fig. 3* v članku (stran 5272).

    Opiši, kaj si ugotovil pri primerjavi delov delovnih listov in znanstvenega članka.

    Opomba: Dijaki naj s primerjavo ugotovijo, katere podatke iz znanstvenega članka so uporabili v delovnih listih pri reševanju nalog.

Tudi postopek za objavo znanstvenega članka (slika 14) je poseben in povsem drugačen kot denimo za članek v dnevnem časopisu. Ko znanstveniki končajo raziskavo, napišejo znanstveni članek – to imenujemo rokopis znanstvenega članka. Odločijo se tudi, v kateri znanstveni reviji bodo članek objavili. Različne znanstvene revije so namenjene različnim področjem znanosti. Avtorji pošljejo rokopis znanstvenega članka uredniku te revije, ki je običajno ugleden znanstvenik z določenega področja znanosti.

Urednik rokopis prebere in se nato odloči, komu bo rokopis poslal v strokovni pregled – **znanstveno recenzijo**. Urednik običajno za znanstvene recenzijo določi dva znanstvenika z ustreznega področja znanosti, ki rokopis kritično pregledata in svoje mnenje o tem, ali je bila raziskava kakovostno opravljena in morebitne predloge za popravke rokopisa pošljeta uredniku. Urednik na temelju pozitivnega oz. negativnega mnenja recenzentov ter lastne strokovne presoje znanstveni članek sprejme za objavo v znanstveni reviji ali ga zavrne. O svoji odločitvi obvesti avtorje.

Če urednik odobri objavo znanstvenega članka, lahko od avtorjev tudi zahteva, da v rokopis pred objavo vnesejo popravke, ki so jih predlagali znanstveni recenzenti. Avtorji določen popravek bodisi vnesejo v rokopis bodisi predlagani popravek zavrnejo, pri čemer pa morajo v pismu uredniku strokovno utemeljiti, zakaj so ta popravek zavrnili. Avtorji popravljen rokopis vrnejo uredniku, ki popravke in strokovne utemeljitve avtorjev pregleda, nato pa je članek objavljen. Znanstveniki za objavo znanstvenega članka v znanstveni reviji od te revije ne prejmejo nobenega plačila (honorarja).

Torej je znanstveni članek že pred objavo podvržen **kritični strokovni presoji** urednika znanstvene revije in najmanj dveh recenzentov, ki lahko objavo članka odobrijo ali zavrnejo. Po objavi v znanstveni reviji pa je članek dostopen vsem znanstvenikom v svetovni znanstveni skupnosti. Znanstveniki, ki jih v članku opisani znanstveni problem zanima, članek kritično preberejo in pogosto tudi ponovijo dele raziskav, opisanih v članku. S tem preverijo, ali so rezultati raziskave, opisani v članku, verodostojni. Tako so **že objavljeni rezultati znanstvenih raziskav neprestano podvrženi kritičnemu preverjanju drugih znanstvenikov**.

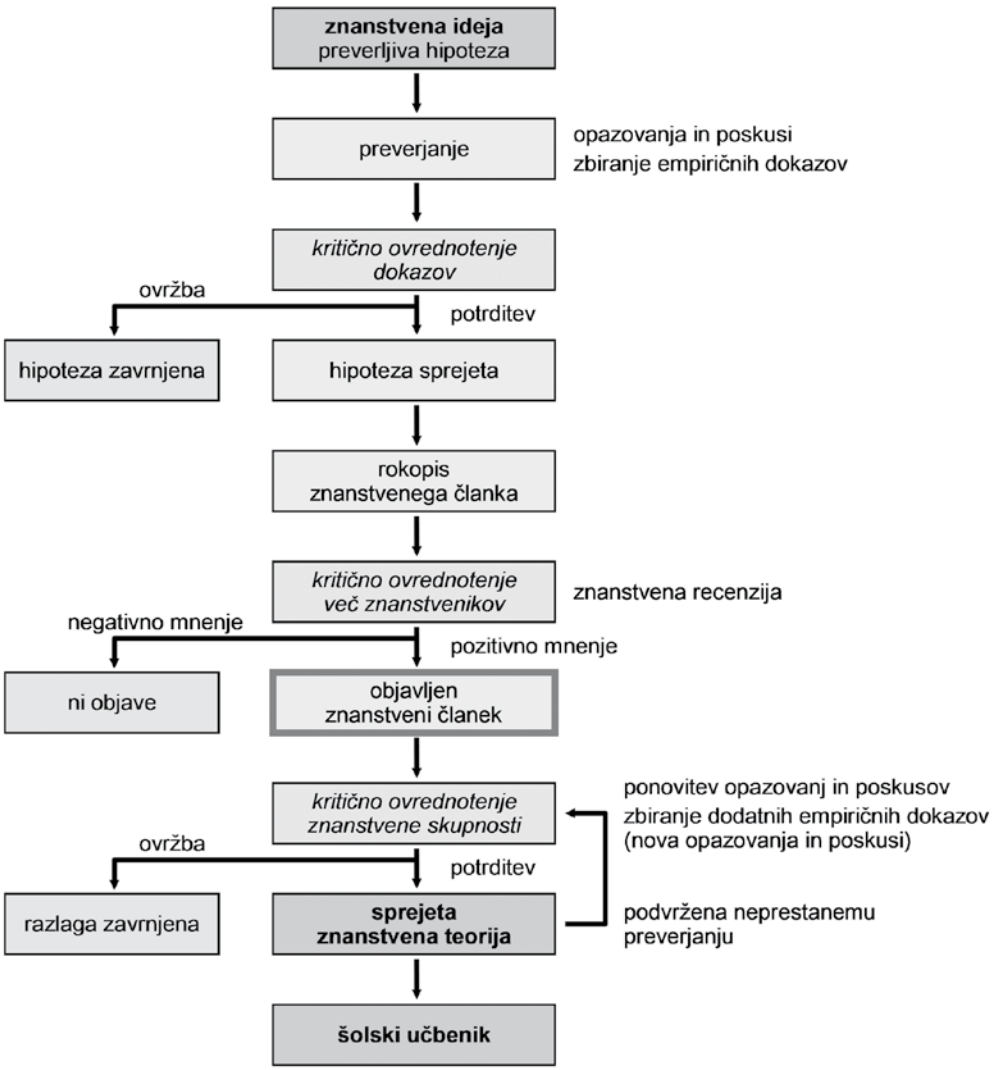
Kadar se v različnih znanstvenih člankih različnih avtorjev nabere zelo veliko rezultatov različnih raziskav (dokazov), ki to znanstveno razlago podpirajo, začnejo znanstveniki v znanstveni skupnosti to znanstveno razlago obravnavati kot znanstveno teorijo. Znanstvena teorija je torej znanstvena razlaga o nekem naravnem pojavu, ki je podprta z veliko dokazi. Toda **tudi veljavnost znanstvene teorije je podvržena neprestanemu kritičnemu preverjanju različnih znanstvenikov**. Če znanstveniki z nadaljnjim delom predložijo dovolj verodostojnih znanstvenih dokazov (rezultatov raziskav), ki kažejo, da del znanstvene teorije ni pravilen, znanstveniki ta del znanstvene teorije (znanstvene razlage) ustrezno spremenijo, tako da je v skladu z vsemi zbranimi znanstvenimi dokazi. Na ta način **se**

lahko znanstvene teorije na temelju predloženih dokazov sčasoma nadgrajujejo, dopolnjujejo in spreminjajo.

Šolski učbeniki o naravoslovnih znanostih obravnavajo dobro preverjene znanstvene razlage, ki so podprte z mnogimi dokazi (rezultati različnih raziskav).

51. Na temelju nalog, ki si jih opravil, razloži, kako bi nekemu svojemu znancu pojasnil razliko med znanstvenim člankom o populacijah sklanih žepnih miši in poljudnoznanstveno novico o teh znanstvenih odkritjih, ki je objavljena v nekem dnevnem časopisu.

Opomba: Dijaki naj opišejo razlike v avtorjih in občinstvu, ki mu je vsak članek namenjen, v strokovnosti jezika ter v postopku objave članka v obeh obravnavanih primerih.



Slika: Postopek od ideje za znanstveno raziskavo do objave znanstvenega članka in oblikovanja znanstvene teorije

Faza 7

Nadaljevanje raziskav in nova vprašanja

Doslej smo si ogledali le majhen del raziskav populacij skalne žepne miši, ki jih je opravila Nachmanova skupina. Vsaka opravljena raziskava namreč odpira nova znanstvena vprašanja. Znanstveniki so tako poleg območja Pinacate raziskali populacije skalnih žepnih miši še na 14 drugih območjih v puščavi, ki so med seboj oddaljena tudi 100 km in več. Ugotovili so, da povsod na svetlih kamninah prevladujejo svetli osebki, na temnih kamninah pa temni osebki. Raziskali so tudi zaporedja nukleotidov v genih, vpletenih v določanje barve dlake. Ugotovili so, da je temna dlaka v različnih območjih puščave posledica različnih mutacij. Torej so v različnih populacijah z različnimi mutacijami nastali različni aleli, ki omogočajo temno dlako, nato pa so ti aleli na temnih kamninah postopno postali prevladujoči zaradi delovanja naravnega izbora.

Znanstveniki so tudi raziskali, ali so populacije skalnih žepnih miši, ki živijo na bližnjih svetlih in temnih kamninah, ločenimi z območjem peska, res povsem ločene populacije (geografska izolacija populacij). Ugotovili so, da med takšnimi bližnjimi sosednjimi populacijami sicer obstaja nekaj pretoka genov (migracij), vendar pa je delovanje naravnega izbora tako močno, da se učinki priselitve svetlih osebkov na temne kamnine ali temnih osebkov na svetle kamnine hitro izničijo.

Nachmanova skupina se je po tem, ko so ugotovili, da je pri skalnih žepnih miših temna dlaka posledica mutacij gena *Mc1r*, lotila tudi preučevanja varovalne barve v populacijah plazilcev (kuščarjev in kač), ki živijo na različnih barvah podlage. Ugotovili so, da je tudi pri plazilcih v nekaterih primerih prevladujoča varovalna barva telesa na različnih barvah podlage posledica mutacij v genu *Mc1r*.

Nekateri znanstveniki preučujejo različno varovalno barvo v različnih populacijah drugih vrst sesalcev. Postopno zbiranje podatkov, ki jih objavljajo različne raziskovalne skupine, znanstvenikom omogoča, da primerjajo posledice različnih mutacij v genu *Mc1r* za barvo dlake oziroma kože pri različnih vrstah živali, tudi pri človeku. Tako različne znanstvene skupine prispevajo k postopnemu dopolnjevanju znanstvenih razlag o delovanju naravnega izbora, pa tudi k razumevanju delovanja genov in beljakovin, ki določajo barvo dlake in kože.

52. Na temelju nalog, ki si jih opravil, poskušaj postaviti nova znanstvena vprašanja in izdelati predloge za nove znanstvene raziskave, povezane s temo raziskav skalne žepne miši.

    Opomba: Učitelj lahko to nalogo izvede tudi kot razpravo z dijaki, ali pa dijaki delajo v skupinah in nato svoje ideje predstavijo drugim dijakom.

Kako deluje znanost

53. V poteku znanstvene raziskave, ki si ga spoznaval na primeru raziskovanja populacij skalnih žepnih miši, poišči primere za naslednja načela, ki opisujejo delovanje znanosti:

a) Znanstveno znanje se nadgrajuje postopno, skozi generacije. Vsaka znanstvena raziskava temelji na predhodno pridobljenem znanju.

b) S povečevanjem preučevanih vzorcev (na primer števila preučevanih osebkov) ter s ponavljanjem poskusov in opazovanj se poveča zanesljivost zaključkov, ki temeljijo na podatkih, pridobljenih v raziskavi.

c) Znanstveniki zbirajo podatke o preučevanem naravnem pojavu z raziskavami v naravi ali v laboratoriju. Zbrane podatke uredijo, analizirajo in v njih iščejo vzorce, ki kažejo na principe delovanja opazovanega naravnega pojava. Zaključki raziskav in znanstvene razlage vedno temeljijo na podatkih, zbranih v naravi.

d) Znanstveniki rezultate raziskave objavijo v znanstvenem članku, v katerem natančno opišejo namen raziskave, predhodno objavljene rezultate, povezane z novo raziskavo, metode raziskovalnega dela, rezultate raziskave ter zaključke, ki temeljijo na teh rezultatih. Znanstveni članek je namenjen drugim znanstvenikom, zato je napisan v zelo strokovnem, znanstvenem jeziku.

a) *Princip delovanja naravnega izbora je opisal Charles Darwin v knjigi O nastanku vrst leta 1859. Razlike v obarvanosti osebkov skalne žepne miši na svetlih in temnih kamninah so znanstveniki opisali že v 20. in 30. letih 20. stoletja. Raziskovalna skupina dr. Nachmana je ta primer naravnega izbora raziskala z novimi metodami, ki omogočajo tudi določanje zaporedja nukleotidov v genih. Pri tem se je opirala na veliko predhodno pridobljenega znanja, ki so ga prispevali drugi znanstveniki, na primer o delovanju naravnega izbora, o zgradbi molekule DNA in genetskem kodu, o genih, ki so vpleteni v določanje barve dlake, o zgradbi beljakovine MC1R itd. Znanstveniki so se oprli tudi na odkritja o zakonitostih dedovanja, ki jih je že leta 1866 objavil Gregor Mendel.*

Opomba: Dijaki lahko v skladu s svojim znanjem navedejo veliko predhodnih znanstvenih ugotovitev, na katere se je pri svojem raziskovanju opirala skupina dr. Nachmana.

b) *Da bi povečali zanesljivost svojih zaključkov, so znanstveniki preučevali populacije skalnih žepnih miši na več svetlih in temnih mestih v puščavi. Na vzorčnem mestu L so najprej ujeli samo 18 osebkov, nato pa so ujeli še dodatne osebke (skupaj 57), da so povečali preučevani vzorec živali in s tem zanesljivost rezultatov in zaključkov.*

c) *Znanstveniki so podatke o ujetih živalih in o njihovih genetskih lastnostih skrbno zapisovali. Nato so podatke smiselno uredili (na primer v preglednice), obdelali (na primer izračunali pogostost fenotipov in genotipov) in včasih tudi prikazali v grafih. Na temelju urejenih podatkov so iskali splošno veljavne vzorce – na primer, ali so na različnih mestih v puščavi na svetlih kamninah populacije vedno pretežno svetle, na temnih kamninah pa vedno pretežno temne. Vzorce v podatkih so iskali tudi, ko so različne alele različnih genov, povezanih z barvo dlake, primerjali z dejansko barvo preučevanih osebkov. Tako so*

ugotovili, da povezava med aleloma D in d gena Mc1r ter barvo dlake popolnoma ustreza dominantno-recesivnemu modelu izražanja genov.

d) *Ogledali smo si znanstveni članek, ki opisuje raziskovanje populacij skalne žepne miši.*

Morda se ti ob nalogah, ki si jih opravil zgoraj, zdi biologija zelo preprosta. V resnici si ves čas obdeloval podatke, ki so bili zbrani v resnični znanstveni raziskavi. Zavedati pa se moraš, da so bili za te delovne liste iz obširnih raziskav raziskovalne skupine dr. Nachmana izbrani tisti rezultati, ki jih lahko dijak s svojim omejenim znanjem biologije pojasni – ti izbrani rezultati tudi dokaj dobro prikazujejo splošne mehanizme naravnih procesov. V resnici so *podrobnosti* procesov v živi naravi bistveno bolj zapletene (na primer možnost migracij med populacijami – pretok genov in neprestanega pojavljanja novih mutacij), zato pojasnjevanje rezultatov raziskav na vseh vzorčnih mestih, ki jih je obravnavala skupina dr. Nachmana, zahteva odlično poznavanje tematike s stališča biologije, pa tudi dobre matematične veščine za obdelavo zbranih podatkov.

Viri

Znanstveni članki

Populacije skalne žepne miši

1 *Nachman, M. W, Hoekstra, H. E, D'Agostino, S. L. (2003). The genetic basis of adaptive melanism in pocket mice. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 100: 5268–5273.*

2 *Hoekstra, H. E, Nachman, M. W. (2003). Different genes underlie adaptive melanism in different populations of rock pocket mice. Mol. Ecol. 12: 1185–1194.*

3 *Hoekstra, H. E, Drumm, K. E., Nachman, M. W. (2004). Ecological genetics of adaptive color polymorphism in pocket mice: geographic variation in selected and neutral genes. Evolution 58: 1329–1341.*

4 *Hoekstra, H. E., Krenz, J. G., Nachman, M. W. (2005). Local adaptation in the rock pocket mouse (Chaetodipus intermedius): natural selection and phylogenetic history of populations. Heredity 94: 217–228.*

5 *Nachman, M. W. (2005). The genetic basis of adaptation: lessons from concealing coloration in pocket mice. Genetica 123:125–136.*

6 *Hoekstra, H. E., Nachman, M. W. (2005). Coat color variation in rock pocket mice (Chaetodipus intermedius): from genotype to phenotype. V: Mammalian diversification: From chromosomes to phylogeography, Lacey, E. A, Myers, P., (eds.), University of California Publications in Zoology, str. 79–99.*

Opomba: Znanstveni članki o populacijah skalne žepne miši so javno dostopni (format pdf) na spletni strani Nachmanove raziskovalne skupine na naslovu *http://eebweb.arizona.edu/nachman/publications.htm.*

Geni, vpleteni v določitev barve telesa pri živalih

1 *Majerus, M.E.N., Mundi, N. (2003): Mammalian melanism: natural selection in black and white. Trends in Genetics 19:585–588.*

2 *Rosenblum, E. B., Hoekstra, H. E., Nachman, M. W. (2004). Adaptive reptile color variation and the evolution of the Mc1r gene. Evolution 58: 1794–1808.*

3 *García-Borrón, J. C., Sánchez-Laorden, B. L., Jiménez-Cervantes, C. (2005). Melanocortin-1 receptor structure and functional regulation. Pigment Cell Res. 18: 393–410.*

4 *Hoekstra, H. E. (2006). Genetics, development and evolution of adaptive pigmentation in vertebrates. Heredity 97: 222–34.*

5 *Arendt, J., Reznick, D. (2008). Convergence and parallelism reconsidered: what have we learned about the genetics of adaptation?. Trends in Ecology and Evolution 23: 26–32.*

6 *Walker, W. P, Gunn, T. M. (2010). Shades of meaning: the pigment-type switching system as a tool for discovery. Pigment Cell Melanoma Res. 23: 485–95.*

Učna gradiva o skalni žepni miši

1 *Howard Huges Medical Institute (HHMI): The Making of the Fittest: Natural Selection and Adaptation:*

- kratek poljudnoznanstveni film (v angleščini): *http://www.hhmi.org/biointeractive/shortfilms/index.html#pocketmouse (15. 3. 2013).*
- prepis besedila filma (v angleščini): *http://www.hhmi.org/biointeracti-*

ve/dvd/transcripts/The Making of the Fittest - Natural Selection & Adaptation (Pocket Mouse) Printable Transcript.pdf (15. 3. 2013).

- delovni listi (v angleščini): *http://www.hhmi.org/biointeractive/activities/pocketmouse.html (15. 3. 2013)*.

2 *Learn Genetics. Genetics Science Learning Center. University of Utah. Rock Pocket Mice:*

- animacija o pogostosti fenotipov: *http://learn.genetics.utah.edu/content/variation/comparative/ (15. 3. 2013)*.

Na naslovnici

PIRH, *pisanka, pisanica, remenica, remenka*, pobarvano ali z ornamenti poslikano trdo kuhano ali izpihano jajce. Pirhi so indoevropski pomladni simbol /.../ Po ljudskem izročilu so bili sprva enobarvni rdeči ali rumeni, pozneje predmet bogatega ornamentiranja v ljudski umetnosti. Še jih krasijo v Beli krajini, Prekmurju in v odmaknjenih krajih ob italijanski meji in Slovenci v Italiji. V ormamentaliki prevladujejo dekorativne prvine (abstraktno okrasje z geometričnimi liki: navadne in dvojne ravne in cikcak črte, valovnice, spirale, svastika; pozneje rastlinski motivi: deteljica, vejica, nagelj), povezane v harmonične kombinacije. Belokranjsko pisanico na vrhu skoraj vedno označuje malteški križ, prekmursko remenko pa drevo življenja. Tehnika krašenja v Beli krajini je batik (ornament se s tekočim voskom in s posebnim pisalom napiše na podlago, povoščeno mesto ostane v osnovni beli ali rdeči barvi, nazadnje pisanico potopijo v črno). V Prekmurju in v Beneški Sloveniji uporabljajo tehniko praskanja oz. škrabanja s posebnim nožičem. Krašenje pisank je največkrat žensko opravilo, v Prekmurju so ga po 1 sv. vojni prevzeli moški, potem ko so pirhe začeli barvati z mizarskimi lužili in nato s temnorjavim ali temnovijoličnim vškrabali cvet kot edini okras.

(povzeto po: Baš, A. (ur.) (2004). Slovenski etnološki leksikon. Ljubljana: Mladinska knjiga, str. 416–417.)

Zavod Republike Slovenije za šolstvo

REPUBLIKA SLOVENIJA
MINISTRSTVO ZA IZOBRAŽEVANJE, ZNANOST IN ŠPORT

Naložba v vašo prihodnost
OPERACIJO DELNO FINANCIRA EVROPSKA UNIJA
Evropski socialni sklad