

# חושבים מדע – מבינים ביולוגיה ניסויים לתלמידי חט"ב

## מאת

**נעים נג'מי**

ד"ר לביולוגיה מוליקולרית

**נאג'י קורטאם**

ד"ר להוראת המדעים-ביולוגיה

**מוחמד חוג'יראת**

ד"ר לכימיה פיסיקאלית

**אחמד בשיר**

ד"ר לכימיה אורגנית

# نفسر علمياً - نفهم بيولوجيا

تجارب مخبرية لطلاب المرحلة الإعدادية

## تأليف

نعيم نجمي

دكتوراه في البيولوجيا الجزيئية

ناجي قرطام

دكتوراه في تدريس العلوم-بيولوجيا

محمد حجيرات

دكتوراه في الكيمياء الفيزيائية

أحمد بشير

دكتوراه في الكيمياء العضوية

**Thinking Science**  
**Comprehending Biology**  
**Experiments for Middle School**

**By**

**Naim Najami**

PhD Molecular Biology

**Naji Kurtam**

PhD Science Education-Biology

**Muhamad Hugerat**

PhD Physical Chemistry

**Ahmad Basheer**

PhD Organic Chemistry

للتسهيل صيغ الكتاب بلغة المذكر  
إلا أن المقصود كلا الجنسين على السواء

الשימוש בלשון זכר הוא לנוחיות בלבד  
כל השאלות והמשימות פונות אל תלמידות ותלמידים כאחד.

مراجعة لغوية: د. حسين حمزة  
طباعة: دار النهضة للطباعة والنشر

© جميع الحقوق محفوظة - 2012

ISBN 978-965-7439-03-6

لا يجوز نشر أو اقتباس أي جزء من هذا الكتاب أو اختزال مادته بطريقة الاسترجاع، أو نقله على أي وجه، أو  
بأي طريقة سواء أكانت الكترونية، أم بالتصوير أم بالتسجيل أم بخلاف ذلك دون الحصول على إذن المؤلفون.





## תוכן עניינים

11	מעבדה מס' 1: נשימת שמרים (1)
13	מעבדה מס' 2: נשימת שמרים (2)
15	מעבדה מס' 3: פעילות האנזים קטלאז ברקמת תאים אנימליים
17	מעבדה מס' 4: קיימות - גשם חומצי
19	מעבדה מס' 5: מעבר חומרים - אוסמוזה
21	מעבדה מס' 6: חדירות חומרים - אוסמוזה
23	מעבדה מס' 7: תגובה של רקמת מלפפון למי חמצן
25	מעבדה מס' 8: חדירות בתפוחי אדמה - השפעת חומרים שונים
27	מעבדה מס' 9: חיידקים אירוביים
29	מעבדה מס' 10: תנאי סביבה לגידול חיידקים
31	מעבדה מס' 11: פירוק עמילן ע"י חיידקים
33	מעבדה מס' 12: ייצור גבינה לבנה
35	מעבדה מס' 13: פוטוטקסיס אצל שלשולים
37	מעבדה מס' 14: נשימה בזרעים
39	מעבדה מס' 15: ההשפעה של ריכוז הרוק על פירוק עמילן
42	מעבדה מס' 16: נשימה או תסיסה
44	מעבדה מס' 17: נשימה בצמחים האומנם?
46	מעבדה מס' 18: חומר אורגני בקרקע
48	מעבדה מס' 19: חלוקת התא - מיטוזה
	מעבדה מס' 20: חיפוש אחרי הגן המקדד לאנזים Ascorbate peroxidase (APX) ע"י השימוש בשיטת PCR



## מעבדה מס' 1: נשימת שמרים (1)

### בטיחות:

לא צריך להרתיח את המים אלא לחמם עד לטמפרטורה של  $30^{\circ}\text{C}$  בלבד.

### ציוד:

- שתי כוסות באותו נפח
- שתי צלחות פלסטיק
- עט סימון

### חומרים:

- שמרים טריים
- קמח
- מים חמים ( $30^{\circ}\text{C}$ )

### הכנה:

- סמן צלחת (1) והכנס לתוכה קמח, מים ושמרים. סמן צלחת (2) והכנס לתוכה קמח ומים בלבד.

### ניסוי:

1. לוש את הקמח והמים ביחד עם השמרים אשר בתוך צלחת (1) והכן מהם בצק.
2. לוש את הקמח והמים אשר בתוך צלחת (2) והכן מהם בצק.
3. את הבצק שהכנת בצלחת (1) גלגל אותו לצורת כדור.
4. את הבצק שהכנת בצלחת (2) גלגל אותו, גם כן, לצורת כדור.



5. סמן על שתי כוסות בעט סימון אחת- "בצק עם שמרים" ושניה- "בצק בלי שמרים".
6. לתוך שתי הכוסות הכנס כמות שווה של מים חמים ( $30^{\circ}\text{C}$ ).
7. לתוך כוס מים "בצק עם שמרים" הכנס כדור הבצק מצלחת (1), ולתוך כוס מים "בצק בלי שמרים" הכנס כדור הבצק מצלחת (2).
8. המתן עד לקבלת התוצאה.

### תצפית:

- שני כדורי הבצק הוכנסו לתוך המים. בתחילה שניהם שקעו, אבל אחרי זמן קצר כדור "בצק עם שמרים" צף ועלה על פני המים ואילו כדור "בצק בלי שמרים" נשאר שקוע בתחתי הכוס.

### מסקנה:

- בתוך הבצק יש שמרים. שמרים הם מיקרואורגניזמים חד-תאיים מקבוצת הפטריות המקיימים תהליך של תסיסה. מקור הסוכר שאותו השמרים מנצלים בתסיסה הוא העמילן שבקמח. בתהליך התסיסה נוצר גז פחמן דו-חמצני, הנכלא בתוך הבצק, וכך נפח הבצק גדל ומשקלו הסגולי יורד ולכן הוא צף ועולה על פני המים.



כדור בצק בלי שמרים



כדור בצק עם שמרים

### Disposal:

- יש להקפיד ששתי הכוסות יהיו זהות זו לזו;
- יש להקפיד ששני כדורי הבצק באותה צורה ונפח;
- יש להניח את שתי הכוסות באותו מקום.

## מעבדה מס' 2: נשימת שמרים (2)

### בטיחות:

אין

### ציוד:

- 2 בקבוקים קטנים 500 מ"ל נקיים ויבשים
- 2 בלונים
- כפית

### חומרים:

- קובית שמרים
- כוס מים פושרים (37 מעלות)
- סוכר

### הכנה:

- לתוך כוס המים הפושרים לפורר את קובית השמרים. לחלק את הכמות בין שני הבקבוקים.

### ניסוי:

1. לבקבוק אחד להוסיף שלוש כפיות סוכר ולערבב ע"י סיבוב הבקבוק. לרשום על הבקבוק שמרים עם סוכר. לבקבוק השני לא להוסיף כלום.
2. להלביש את פיות שני הבקבוקים בבלונים ולהמתין לפחות רבע שעה.

### תצפית:

- אחרי רבע שעה ניתן להבחין כי הבלון המהודק לפתח הבקבוק עם השמרים והסוכר התנפח, ואילו הבלון שעל פתח הבקבוק השני נשאר רפוי.

### מסקנה:

- השמרים הם תאים חיים, שנמצאים במצב רדום. בנוכחות מזון (סוכר) וטמפרטורה מתאימה מפרקים את הסוכר תוך יצירת גז פחמן דו חמצני המשתחרר וגורם לניפוח הבלון בבקבוק בו היה לשמרים את הסוכר לפרוק. כמו כן, בזמן פרוק הסוכר נוצר אלכוהול אותו ניתן להריח בעת פרוק הניסויי.

## **Disposal**

- יש להקפיד ששני הבקבוקים ושני הבלונים יהיו זהים זה לזה ;
- יש להניח את שני הבקבוקים באותו מקום.

## מעבדה מס' 3: פעילות האנזים קטלאז ברקמת תאים אנימליים

### בטיחות:

- לעבוד עם כפפות, ולזהר בעת חיתוך הכבד עם הסקלפל. בנוסף, הריאקציה עם הכבד היא עוצמתית. אם פוקקים את המבחנה עם הכבד, יש להיזהר מפני שהפקק עלול לעוף בעוצמה לגובה (חשוב להרחיק את התלמידים).

### ציוד:

- צלחת פטרי
- סקלפל
- מלקט
- 2 מבחנות
- קסם עץ
- גפרורים
- פקק



### חומרים:

- פיסות כבד עוף טרי
- 2 מבחנות עם 5 סמ"ק של מי חמצן 3% ( $H_2O_2$ ).

### הכנה:

- חתוך את הכבד שבתוך צלחת הפטרי לפיסות קטנות שוות נפח.

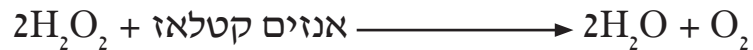
### ניסוי:

1. לתוך כל אחת מהמבחנות עם מי החמצן מכניסים בעזרת מלקטת פיסת כבד. סוגרים בפקק וצופים במתרחש.
2. לאחר מספר שניות מדליקים את קסם העץ בעזרת הגפרור, מחכים עד שקצהו מאדים ואז מסירים את הפקק שמכסה אחת מהמבחנות ומכניסים מהר את הקסם הבוער וצופים במתרחש.

### תצפית:

- האנזים קטלאז מפרק מי חמצן ( $H_2O_2$ ) למים ( $H_2O$ ) ולחמצן ( $O_2$ ), והוא נמצא בצמחים, בעלי חיים, שמרים ועוד. אפשר לזהות את פעילות הקטלאז על פי בועות החמצן

המשתחררות.



אפשר להוכיח כי הגז שהשתחרר הינו חמצן בעזרת קסם העץ המאדים. בזמן שמכניסים אותו לתוך המבחנה עם הבועות רואים ניצוץ ובעירה מחודשת דבר שיכול להתרחש בעזרת גז החמצן בלבד.

### **מסקנה:**

תוך כדי פעילות הנשימה התאית נוצרים תוצרי לוואי רעילים שמי חמצן הוא אחד מהם. על אף הכמות הזניחה של מי החמצן, הוא מסוכן מאוד לתא ויכול להוביל למותו כי הוא יכול לגרום לנזק למרכיבי התא כמו ממברנות, אברונים, מולקולות חיוניות - על כן יש למנוע את הצטברותו בתא. על מנת לנטרל את תוצרי הלוואי הרעילים פיתחו היצורים העושים נשימה תאית אנזימים שיכולים לפרק את הרעלים.

### **Disposal:**

- יש להשתמש במי חמצן טריים מפני שתהליך פירוק מי החמצן מתקיים מעצמו ומי חמצן "ישנים" לא יתנו את אותן התוצאות.

## מעבדה מס' 4: קיימות – גשם חומצי

### בטיחות:

- לזהר במהלך העבודה עם החומץ, לא לשאוף את האדים.

### ציוד:

- שלושה עציצים זהים זה לזה
- כוסות חד פעמי
- מזרק
- עט ודפים

### חומרים:

- מים
- חומץ

### הכנה:

- נכין שלושה עציצים זהים זה לזה ונניח אותם בחלון (ביחד). לאחר מכן, ניקח שלושה דפים ועליהם נכתוב מספרים, נדביק על כל אחד משלושת העציצים מספר.

### ניסוי:

- ביום הראשון לניסוי:
  - נוסיף לעציץ מספר 1- כוס מים.
  - לעציץ מספר 2- חצי כוס מים + 5 מ"ל חומץ.
  - עציץ מספר 3- 10 מ"ל חומץ.

על פעולות אלה נחזור במשך ארבעה ימים.

### תצפית:

- במשך ארבעה ימים נעקוב אחר שלושת העציצים. בכל יום באותה שעה נוסיף לכל עציץ את הנתונים שציינו במהלך הניסוי. הצמחים שאליהם תוזרק כמות גדולה יותר של גשם חומצי יפגעו, ואילו צמחים שאליהם תוזרק כמות קטנה יותר של גשם כמעט ולא יפגעו.

## מסקנה:

- גשם חומצי כולל משקעים (גשם, שלג, טל) שדרגת חומציותם נמוכה מ-5.5 pH (להשוואה: דרגת חומציותם של מים מזוקקים היא pH7 = ניטרלי). ככל שקטן המספר בטבלת החומציות, כן גדלה חומציותו של הגשם.

גשם חומצי נוצר מהתמוססות של תחמוצות גופרית ותחמוצות חנקן באדי מים הנמצאים באוויר; תחמוצות הגופרית והחנקן נפלטות מבעירה של דלק פוסילי, בעיקר פחם. אדי המים חוזרים אל הקרקע כמשקעים חומציים.

הגשם החומצי מזהם מקורות מים (אגמים, נהרות, נחלים), פוגע ביצורים החיים בהם, גורם לקורוזיה (בליה) של מבנים, מביא למותם של יערות (מרבית יערות אירופה הושמדו מגשם חומצי) ושל גידולים חקלאיים. הקרקע הופכת חומצית ומהצמחייה נמנעת אספקת חומרי מזון חיוניים כגון: אשלגן, מגנזיום וסידן.

## Disposal:

- להקפיד על הבדיקות בזמן קבוע.
- לדאוג שהעציצים יהיו זהים ומושתל בהם אותו צמח.
- להעמיד את העציצים באותו מקום ושיקבלו אותם תנאים.

## מעבדה מס' 5: מעבר חומרים – אוסמוזה

### בטיחות:

- לעבוד בעדינות ובזהירות ובמיוחד במהלך השימוש בסכין.

### ציוד:

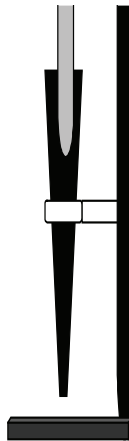
- מעמד עם מהדק
- פקק גומי שדרכו עובר צינור זכוכית באורך 15-20 ס"מ (הפקק צריך להתאים לפתח שבגזר)
- סכין חדה
- שעווה

### חומרים:

- גזר גדול וטרי
- אבקת סוכר (לא גרגרים, אלא דווקא אבקה)

### הכנה:

- חותכים, בעזרת הסכין, חור גדול בבסיס הגזר ומעמיקים אותו, עד שניתן להוציא את רוב החלק הפנימי. מתקבל גזר חלול כמעט לכל אורכו.



### ניסוי:

1. מחברים את הגזר אל המעמד בעזרת המהדק (ראה איור).
2. ממלאים את החלל באבקת סוכר.
3. סותמים את הפתח בפקק עם הצינור ומקפידים לאטום היטב את הפתח מסביב לפקק.



אם יש צורך, אפשר להיעזר בשעווה כדי לקבל אטימה טובה יותר.

### **תצפית:**

- עוקבים אחר המתרחש. כעבור כשעה ניתן להבחין כבר בנוזל העולה בצינור.

### **מסקנה:**

- אוסמוזה היא תנועה של מים דרך הקרום.  
מים עוברים דרך קרום התא בצורה חופשית. מולקולות המים קטנות מאוד, והקרום אינו מהווה מכשול למעברן. הגורם המשפיע על תנועת המים לתוך התא או החוצה הוא ריכוז החומרים שנמצאים בתוך התא ומחוצה לו.

### **:Disposal**

- לבחור גזר גדול ועבה כדי שניתן לחורר אותו בלי קושי.

## מעבדה מס' 6: חדירות חומרים - אוסמוזה

### בטיחות:

אין

### ציוד:

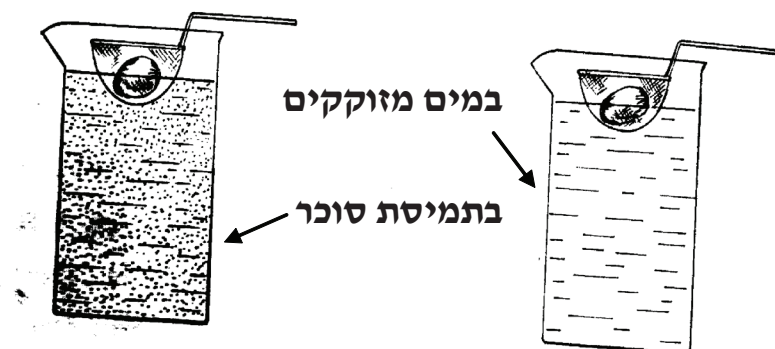
- שתי מסננות רשת
- שתי כוסות זכוכית באותו נפח

### חומרים:

- שתי ביצים
- מים מזוקקים
- תמיסת סוכר מרוכזת (50%)

### הכנה:

- הוציא את שני החלמונים מתוך הביצים בזהירות, והנח אותם בתוך מסננת הרשת.



### ניסוי:

1. לתוך כוס מים מזוקקים הכנס את מסננת הרשת עם חלמון הביצה.
2. לתוך כוס תמיסת הסוכר המרוכזת הכנס את מסננת הרשת השנייה עם חלמון הביצה.
3. חכה זמן וצפה במתרחש.

### תצפית:

- עוקבים אחר המתרחש. כעבור כשעה ניתן להבחין כבר בשינוי בנפח החלמונים שהונחו

בתוך שתי התמיסות השונות: החלמון שהונח בתוך המים המזוקקים התנפח - גדל נפחו ואילו החלמון שהונח בתוך תמיסת הסוכר המרוכזת הצטמצם - ירד בנפחו.

### **מסקנה:**

- אוסמוזה היא תנועה של מים דרך הקרום.
- מים עוברים דרך קרום התא בצורה חופשית. מולקולות המים קטנות מאוד, והקרום אינו מהווה מכשול למעברן. הגורם המשפיע על תנועת המים לתוך התא או החוצה הוא ריכוז החומרים שנמצאים בתוך התא ומחוצה לו.

### **:Disposal**

- הביצים צריכות להיות מאותו מקור וזהות בנפח.

## מעבדה מס' 7: תגובה של רקמת מלפפון למי חמצן

### בטיחות:

אין

### ציוד:

- שתי כוסות באותו נפח (250 מ"ל)
- שתי צלחות פלסטיק
- עט סימון
- פומפייה
- משפך
- גזות
- כפית
- 2 מבחנות רגילות
- 2 פיפטות 10 מ"ל
- צלחת פטרי עם דסקיות נייר

### חומרים:

- 2 מלפפונים
- מי חמצן 3%
- מים מזוקקים

### הכנה:

- גרד את המלפפון באמצעות מגרדת דקה (פומפייה) אל תוך צלחת פלסטיק.
- הנח במשפך פיסה אחת של גזה (4 שכבות).
- באמצעות כפית העבר בזהירות חלק מגרידת המלפפון (כולל הנוזלים שבמשפך, וסנן את הנוזלים. בעזרת הכפית, לחץ בעדינות על גרידת המלפפון וסנן אותה לתוך הכלי.
- השלך את הגזה ואת שאריות הגרידה שבתוכה לכלי פסולת.

### ניסוי:

1. לרשותך שתי מבחנות. רשום על מבחנה אחת "מים" ועל האחרת "מי חמצן".

2. רשום על פיפטה אחת של 10 מ"ל "מים" ועל האחרת "מי חמצן".
3. באמצעות הפיפטה המסומנת "מים" העבר 15 מ"ל מים מזוקקים למבחנה המסומנת מים.
4. באמצעות הפיפטה המסומנת "מי חמצן" העבר 15 מ"ל מי חמצן למבחנה המסומנת מי חמצן.
5. על שולחןך צלחת פטרי ובה דסקיות נייר סופג. באמצעות מלקטת, קח דסקית אחת וטבול אותה במיצוי המלפפון (אל תשחרר את הדסקית מהמלקטת).
6. הכנס את הדסקית למבחנה עם מי חמצן ושחרר אותה על פני הנוזל.
7. נגב את המלקטת באמצעות נייר מגבת.
8. חזור על ההוראה הקודמת עם דסקית נייר נוספת, ובמקום למבחנה עם מי חמצן הכנס אותה למבחנה עם המים.

### **תצפית:**

- עוקבים אחר המתרחש. במבחנה "מים" הדסקית שוקעת/אינה צפה. במבחנה "מי חמצן" הדסקית צפה על פני הנוזל ויש בועות קטנות בשולי הדסקית.

### **מסקנה:**

- בתאים של יצורים חיים בסביבה אירובית (בנוכחות חמצן) יש מי חמצן שהם רעילים לתא. בתאים אלה מצוי האנזים קטלאז, המזרז את פירוק מי החמצן למים וחמצן. כאשר החמצן נמצא בסביבה מימית יותר לעיתים בועות. במבחנה "מי חמצן" הקטלאז מזרז פירוק של מי חמצן. משתחרר חמצן ונוצרות בועות הגורמים לעליית הדסקית כלפי מעלה. במבחנה "מים" אין מי חמצן ולכן לא משתחרר חמצן ואין בועות.

### **Disposal:**

- יש להשתמש במי חמצן טריים מפני שתהליך פירוק מי החמצן מתקיים מעצמו ומי חמצן "ישנים" לא יתנו את אותן התוצאות.
- יש להיזהר בזמן הגירוד – לגרד בעדינות כדי שלא להיפצע.

## מעבדה מס' 8: חדירות בתפוחי אדמה - השפעת חומרים שונים

### בטיחות:

- לעבוד בעדינות ובזהירות ובמיוחד במהלך השימוש בסכין.

### ציוד:

- צלחת פלסטיק
- כפית
- סכין

### חומרים:

- שלוש פקעות תפוחי אדמה
- קמח
- מלח
- סוכר

### הכנה:

- הכן שלושה חצאים דומים מפקעות תפוחי האדמה, והנח אותם על הצלחת בצורה שהחלק החתוך פונה למעלה.
- באמצע כל חצי פקעת שהכנת, הכן חור במידות 2X2X2, בעזרת סכין.

### ניסוי:

- לתוך החור באחד החצאים הכנס בעזרת הכפית קמח. חזור על אותה פעולה והכנס לתוך שני החצאים האחרים מלח ולאחר מכן לחצאי הנותר הכנס את הסוכר.

### תצפית:

- עוקבים אחר המתרחש במשך 15 דקות.
- בתפוח אדמה + קמח ----- אין שינוי.
- בתפוח אדמה + מלח ----- מופיעה רטיבות.
- בתפוחי אדמה + סוכר ----- מופיעה רטיבות רבה. החור מתמלא בנוזל.

### מסקנה:

- התהליך המתרחש בתפוח אדמה + מלח ובתפוח אדמה + סוכר הוא אוסמוזה. החומרים

הנמסים במוהל התא שיצא מן התאים הפצועים. התמיסה הנוצרת מרוכזת יותר ממוהל התאים ולכן יוצאים מים נוספים מן התאים. מסיסות הסוכר היא גבוה יותר ממסיסות המלח ולכן יותר מים מתאספים בתוך החור עם הסוכר, באותה יחידת זמן, מאשר במלח. קמח לא נמס במים ולכן אין יציאת מים באוסמוזה מתוך התאים בחור זה.

### **Disposal**

- הקפד שתפוחי האדמה יהיו טריים ומאותו סוג.
- הקפד שהחורים יהיו דומים ובאתו גודל בדיוק.
- הקפד להכניס לתוך חור כמות שווה מתוך שלוש האבקות.
- הקפד לשים את כל החצאים באותו מקום.

## מעבדה מס' 9: חיידקים אירוביים

### בטיחות:

- עבוד עם כפפות.

### ציוד:

- מיקרוסקופ
- מגש
- צלחות פטרי ריקות
- זכוכיות מעוקרים וזכוכיות מכסות
- מחט בקטריולוגית
- מדבקות נייר ומרקר

### חומרים:

- מים מעוקרים ומזוקקים בבקבוק טפי
- פרי בשל מאוד או רקוב (בננה או כל פרי אחר)
- זרעים של שעועית
- כמות קטנה של קש או עשבים יבשים
- ענבים, תפוח עץ
- גבינה לבנה

### הכנה:

- קלוף את הבננה הבשלה מאוד או הרקובה שלפניך; מרח את מחציתה בצלחת פטרי נקייה, הרטב במים והנח את הצלחת כשהיא פתוחה במגש.

### ניסוי:

1. בצלחת פטרי (שנייה) שים עשרה זרעים של שעועית. על כל זרע טפטף טיפה אחת של מים.
2. בצלחת השלישית פזר קש או עשבים והרטיבם במים.
3. בצלחת הרביעית הנח ענבים, או תפוח עץ; סחט את הענבים ופזר על קרקעית הצלחת; אם השתמשת בתפוח עץ רסק אותו ולאחר מכן הרטב במים.
4. בצלחת החמישית הנח את הגבינה הלבנה והרטבה במים.



## **תצפית:**

- לאחר שבוע ימים מהעמדת הניסוי וכל שבוע במשך חודש ימים, ערוך תצפית במתרחש, רשום, צייר וצלם דברים שמעניינים אותך.
- קח דגימה למיקרוסקופ, פעם בשבוע; בחר דגימה ממקום שמעניין אותך והעבר אותה בעזרת מחט בקטרילוגית אל זכוכית נושאת; הוסף טיפת אחת של מים ופזר את הדגימה בעזרת המחט במים שהוספת. כסה את הדגימה בזכוכית מכסה.
- הנח את הדגימה שהכנת מתחת לעדשה הקטנה ביותר במיקרוסקופ. הסתכל תוך מעבר מהגדלה נמוכה לגדולה יותר.

## **מסקנה:**

- החיידקים הם יצורים חד-תאיים; אורך התא אינו עולה על 10 מיקרומטר; תא החיידק חסר קרום גרעין, לכן הוא נקרא יצור חי פרוקריוטי. חיידקים מתאפיינים בתפוצתם הרבה על כדור הארץ ואף במקומות בהם קשה לדמיין שקיימים חיים. לחיידקים יש שלוש צורות עיקריות: כדורי (Coccus) מקלוני (Bacillus) לולייני (Spirillum). החיידקים מופיעים/מסתדרים בתאים נפרדים או בקבוצות.

## **:Disposal**

- העבר את כל הצלחות למגש, ושמור שכל הצלחות תישארנה פתוחות במשך כל תקופת הניסוי.

(מתוך: "מסע חקר לעולמם המופלא של המיקרואורגניזמים"- מחבר מחמוד חליל, הוצאת הטכניון, משרד החינוך ומל"מ, 2000).

## מעבדה מס' 10: תנאי סביבה לגידול חיידקים (הצורך בטמפרטורה מתאימה)

### בטיחות:

- לעבוד עם כפפות.

### ציוד:

- שתי צלחות פטרי עם מצע גידול
- צלחת עם מושבות של חיידקים (שהוכנה מקודם)
- קסמי עץ שהורתחו (סגורים בצנצנת)
- סרט הדבקה
- עט סימון

### הכנה:

- מסמנים את הצלחות במספרים 1, 2.
- בוחרים אחת ממושבות החיידקים לזריעה בצלחות (ניתן להשתמש במושבות שגדלו בצלחות מניסוי 9).

### ניסוי:

- א. מוציאים קיסם מהצנצנת (וסוגרים אותה מיד), נוגעים בקצה הקיסם במושבת החיידקים שנבחרה.
- ב. פותחים צלחת מספר 1 ומורחים בעדינות את החיידקים שעל הקיסם בכמה מקומות על המצע. סוגרים מיד את הצלחת ומהדקים בסרט הדבקה.
- ג. חוזרים על פעולות א-ב בצלחת מספר 2.
- ד. הופכים את הצלחות ומניחים אחת על השולחן בחדר ואחת בתוך המקרר.

### תצפית:

- אחרי שבוע בודקים אם גדלו מושבות חיידקים בצלחות.

### מסקנה:

- החיידקים הם יצורים חיים ועליהם לקבל מהסביבה את הצרכים החיוניים לגידולם. מינים שונים של חיידקים דורשים תנאי טמפרטורה מסוימים לגידול. יש טווח רחב בין טמפרטורה מינימאלית לבין טמפרטורה מקסימאלית אשר מעבר להן התאים מפסיקים

לגדול. בתוך הטווח יש תחום מוגבל, בו קצב ושיעור הגידול מקסימאליים הנקרא הטמפרטורה האופטימאלית. לכל מין חיידק יש את הטמפרטורה האופטימאלית לגידולו. בד"כ הטמפרטורה האופטימאלית הנה בהתאמה לבית הגידול הטבעי של אותו המין. השפעת הטמפרטורה על גידול חיידקים הנה בעצם, השפעת הטמפרטורה על התהליכים האנזימטיים בתאים. ככל שיורדת הטמפרטורה, מואטת הפעילות האנזימטית ועמה קצב הגידול. בנקודת הקיפאון פוסקת הפעילות המטבולית לא רק בגלל האטת פעילות האנזימים אלא גם בשל חוסר מים במצב נוזלי בתא. כאשר הטמפרטורה עולה מעל הטמפרטורה האופטימאלית, פעילות המטבולית עולה אך באותו זמן עולה גם קצב הדנטורציה של חלבונים ואנזימים ובסופו של דבר מגיעים למוות של התא.

## **:Disposal**

- לבצע את הטיפולים מהר כדי שלא יקרה זיהום.

## מעבדה מס' 11: פירוק עמילן ע"י חיידקים

### בטיחות:

- לעבוד עם כפפות.

### ציוד וחומרים:

- שלוש צלחות פטרי
- מצע אגר
- עמילן
- פירורי אדמה
- תמיסת יוד (לזיהוי עמילן)
- טפטפת
- עט סימון
- סרט הדבקה

### הכנה:

- מכינים שלוש צלחות פטרי עם מצע אגר ועמילן.

### ניסוי:

1. בצלחת השנייה מפזרים מעט פירורי אדמה ומכסים אותה.
2. מסמנים וסוגרים בסרט הדבקה את הצלחת השנייה והשלישית.

### תצפית:

- משאירים את הצלחות בחדר למשך ימים אחדים. כעבור ימים אחדים פותחים את הצלחת השנייה והשלישית, מטפטפים מעט יוד על פני כל שטח המצע. משווים את התוצאות בצלחות השונות.

### מסקנה:

- האינדיקטור יוד מעיד על נוכחות של עמילן. במידה ובקרקע מצויים חיידקים מפרקים, התוצאה הצפויה להיות מטפטפים מעט יוד על פני כל שטח המצע. משווים את התוצאות המפרקים (החיידקים והפטריות) מהווים קבוצה מיוחדת וחשובה. הם צורכים תרכובות אורגניות מוכנות. הם מפרישים אנזימים לסביבתם, ואלה מסייעים לפירוק התרכובות האורגניות. מקצת תוצרי הפירוק – מולקולות אורגניות קטנות ומסיסות – נספגות אל

תוך גופם של המפרקים (בדומה לתוצרי העיכול) ומשמשות להם כמקור אנרגיה וכמקור  
תרכובות פחמן.

### **:Disposal**

- לבצע את הטיפולים מהר.
- להעמיד את הצלחות באותו מקום ולחשוף אותן לאותם תנאים.

## מעבדה מס' 12: ייצור גבינה לבנה

### בטיחות:

- להיזהר בעת הדלקת האש והרתחת החלב.
- להיזהר בעת הרמת המשקולת לבל תיפול מבין ידיך.

### ציוד:

- מד חום
- סיר עם מכסה
- כוס כימית בנפח 100 מ"ל
- כפית
- שקית בד לבנה
- משקולת 20 ק"ג או אבן שקולה נקייה
- סכין
- נייר pH

### חומרים:

- 1 ליטר חלב
- אנזים "רנילאז" בתוך בקבוק טפי
- 10 גרם מלח בישול

### הכנה:

- שפוך לסיר שקית של 1 ליטר חלב.
- הרתח את החלב, היזהר לבל יגלוש בעת הרתיחה.
- הנח לחלב להצטנן מעט, עד לטמפרטורה של 37-40 מעלות; תוכל לבדוק זאת בעזרת מד חום.

### ניסוי:

1. המס היטב במים בתוך כוס טיפה אחת של האנזים "רנילאז".
2. שפוך את תוכן הכוס אל תוך סיר החלב.
3. הוצא דגימה בעזרת כפית ובדוק את ה-pH. רשום את התוצאה.

4. כסה את הסיר בעזרת מכסה. וודא שהסיר אכן סגור היטב!
5. המתן 20 דקות, פתח את הסיר וערבב בעזרת הכפית.
6. הוסף 10 גרם מלח בישול וערבב שוב.
7. העבר את תוכן הסיר לתוך שקית הבד, ושים על מגש נקי.
8. שים את המשקולת על שקית הבד; מים יחלחלו לאט מהשקית למגש.

### **תצפית:**

- המתן עד שכל המים יצאו מהשקית (בדרך כלל 24 שעות יספיקו).
- הוצא את הגבינה שנוצרה, חתוך בעזרת סכין.
- הוצא דגימה בעזרת הכפית לבדיקת ה-pH. המס אותה קודם במים. רשום את התוצאה שקיבלת.
- טעם לבריאות!!

### **מסקנה:**

- גבינה היא מוצר חלב מוצק המיוצר מחלב. בתהליך ייצור הגבינה מופרד הגבן (curd), המרכיב המוצק, ממי הגבינה (whey). הקרשת החלב נעשית בעזרת מחמצת חלב או אנזים הנקרא אנזים הגבנה (רנילאז). מחמצת החלב, למשל לבן, יוגורט או שמנת חמוצה, היא תרבית של חיידקי חומצה לקטית. הם גורמים ללקטוז שבחלב (סוכר החלב) להפוך לחומצה לקטית ולהוריד את ה-pH, דבר הנחוץ להקרשת החלב. התהליך מתרחש בטמפרטורה שבין 20-45 מעלות ונמשך בין 30 דקות ל-36 שעות. הוספת אנזים הגבנה גורמת לפירוק החלבון העיקרי שבחלב, קזאין, לצורה לא מסיסה, כלומר האנזים מביא לשקיעה של החלבון וליצירת מרכיב מוצק.

### **Disposal:**

- וודא ששקית הבד נקיייה; ליתר בטחון רחץ אותה שוב במים.

(מתוך: "מסע חקר לעולמם המופלא של המיקרואורגניזמים"- מחבר מחמוד חליל, הוצאת הטכניון, משרד החינוך ומל"מ, 2000).

## מעבדה מס' 13: פוטטקסיס אצל שלשולים

### בטיחות:

אין

### ציוד:

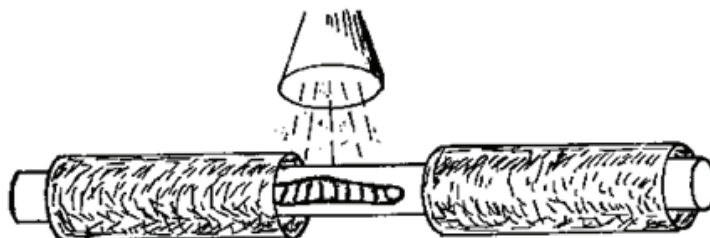
- צינור זכוכית או פלסטיק קשוח בקוטר של 10 מ"מ ובאורך של 25 עד 30 ס"מ.
- שני שרוולים עשויים מנייר בריסטול שחור שקוטרם מעט גדול מהקוטר החיצוני של צינור הזכוכית ואורך כל אחד מהם כשליש אורכו של צינור הזכוכית.
- מנורת שולחן.

### חומרים:

- שלשול חי ופעיל.

### הכנה:

- השחילו בזהירות שלשול חי ופעיל לתוך צינור הזכוכית.



### ניסוי:

1. הזיזו את שרוולי הנייר כך שהקצה הקדמי של השלשול יהיה חשוף לאור.
2. הזיזו את שרוולי הנייר כך שהקצה הקדמי של השלשול יהיה חשוף לאור.
3. האירו במנורה את החלק האמצעי של גוף השלשול בעוד הקצה הקדמי והקצה האחורי מכוסים ע"י שרוולי הבריסטול.

### תצפית:

- צפו במתרחש כל הזמן ועקבו אחר תגובת השלשול להארה וגם אילו חלקים מגוף השלשול רגישים לאור ואילו אזורים אינם רגישים.



## **מסקנה:**

• פוטוטקסיס- תנועת האורגניזמים בתגובה לאור, מתחלק לשני סוגים:

1. פוטוטקסיס חיובי- לכיוון האור.

2. פוטוטקסיס שלילי- לכיוון ההפוך מהאור.

ניסוי זה בא להראות שהשלשול מבחין באור וכי האזורים הרגישים לאור מצויים בעיקר בפלג גופו הקדמי ופחות בפלג האחורי. אמצע הגוף אינו גיש כלל לאור. דבר זה נובע מהעובדה שהשלשול מוציא ממחילתו את ראשו כדי למשוך מזון למחילה ואת קצהו האחורי כדי להפריש. מרכז גופו אינו יוצא בדרך כלל מהמחילה אלא בחשיכה. כאשר חושפים חליפות חלקי גוף שונים, אפשר להיווכח שהשלשול נסוג אל תוך השרוול כשחושפים לאור את שני הקצוות של גופו.

## **Disposal:**

• רצוי שמועד פעילות זו יהיה בחורף, החל מחודש ינואר - אחרי איסוף השלשולים בשדה.

(מתוך: "חי וצומח בעונתו ובבית גידול: יצורים בקרקע". מחבר שלמה מרון, המרכז הישראלי להוראת הצדעים,

1993)

## מעבדה מס' 14: נשימה בזרעים

### בטיחות:

אין

### ציוד:

- 3 מבחנות גדולות
- עט סימון
- כדורי זכוכית
- פקקי גומי למבחנות
- כוס גדולה להכנת אמבט מים
- מד חום

### חומרים:

- זרעי חומוס נובטים
- זרעי חומוס יבשים
- תמיסת אינדיקטור פינול אדום

### הכנה:

- סמן 3 מבחנות גדולות במספרים 1-3.
- טפטף 4 טיפות אינדיקטור לכל אחת משלוש המבחנות.
- הוסף לכל מבחנה כדורי זכוכית על לגובה של 3 ס"מ.

### ניסוי:

1. הוסף למבחנה 1 - זרעי חומוס נובטים, עד שהמבחנה תהיה מלאה.
2. הוסף למבחנה 2 - זרעי חומוס יבשים, עד שהמבחנה תהיה מלאה.
3. למבחנה 3 אל תוסיף זרעים.
4. פקוק את כל במבחנות בפקקי גומי.

5. הכנס את מבחנות 1, 2 ו- 3 לאמבט מים בטמפרטורה של 35°C.

6. רשום את זמן תחילת הניסוי.

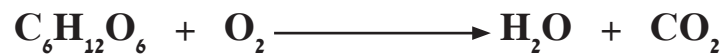
7. נער את המבחנות בעדינות כל 5 דקות, כדי שתמיסת האינדיקטור תבוא במגע עם האוויר סביב כדורי הזכוכית.

### תצפית:

• עקוב אחר המתרחש. בדוק כמה זמן עובר עד שתמיסת האינדיקטור איבדה את צבעה. הפסק את הבדיקה לאחר 25 דקות.

### מסקנה:

הנשימה התאית הוא התהליך המתבצע בכל תא ותא בגופם של כל היצורים החיים (כולל צמחים). באמצעות תהליך זה כל תא ותא מבצע את אחת מפעולות החיים החשובות ביותר שהיא הפקת אנרגיה מהמזון. המגיבים של התהליך הם סוכר (גלוקוזה) המגיע מהמזון וחמצן המגיע לתא הודות לתהליך חילוף הגזים. התוצרים של תהליך הנשימה התאית הם פחמן דו חמצני שנפלט בנשיפה (הוצאת האוויר דרך הפה והאף) ומים שמנוצלים בתא לתהליכים שונים. נסכם את התהליך במשוואה:



גלוקוזה      חמצן                              פחמן דו חמצני      מים

בניסוי הבא נוכיח כי זרעים של חומוס (החומוס הוא צמח) מבצעים גם הם נשימה תאית. כיצד נוכיח שהזרעים נושמים? כידוע הפחמן הדו חמצני הוא תוצר של תהליך הנשימה התאית. פנול אדום, עוזר לנו לזהות נוכחות של פחמן דו חמצני. האינדיקטור הזה משנה את הצבע שלו מאדום לצהוב בנוכחות פחמן דו חמצני. פחמן דו חמצני מתמוסס במים ויוצר חומצה פחמתית הגורמת ל pH של המים לרדת ולהפוך לחומצי.

### :Disposal

- בחר זרעי חומס מאותו זן ובגודל דומה. עדיף שיהיו מאותה שקית.
- דאג שטמפרטורת המים באמבט תהיה 35°C.
- הקפד שהזרעים לא יבואו במגע עם תמיסת הפינול האדום.

## מעבדה מס' 15: ההשפעה של ריכוז הרוק על פירוק עמילן

### בטיחות:

אין

### ציוד:

- כוס לשימוש חד-פעמי ובה כ-50 מ"ל מים לשתייה ומסומנת "מים לשתייה".
- 1 כוס לשימוש חד-פעמי (נוסף).
- 3 מבחנות רגילות בכך מבחנות.
- פיפטה של 5 מ"ל (או 10 מ"ל) + פרופיטה אחת (פיפטור) המיועדת לפיטה של 5 מ"ל (או 10 מ"ל).
- 3 מקלונים שקצותיהם עטופים בצמר גפן (קיסמי אוזניים).
- 5 פיפטות פסטר מפלסטיק לשימוש חד-פעמי בנפח 3 מ"ל.
- 2 צלחות לשימוש חד-פעמי. צייר על הצלחת 3 עיגולים (בקוטר כ-2 ס"מ) וסמנם באותיות: א, ב, ג.

### חומרים:

- כ-15 מ"ל מים מזוקקים בכלי המאפשר הכנסת פיפטה של 5 מ"ל (או 10 מ"ל). סמן על הכלי "מים מזוקקים".
- כ-5 מ"ל תרחיף עמילן בכלי מסומן "עמילן" + פיפטת פסטר לשימוש חד-פעמי (מפלסטיק) בנפח 3 מ"ל, מסומנת "עמילן".

### הכנה וניסוי:

#### הכנת תמיסת מים ורוק

- א. על שולחן כוס, ועליה רשום "מים לשתייה". שתה את כל המים שבכוס, כדי לשטוף את הפה.
- ב. לרשותך 3 מקלונים שקצותיהם עטופים בצמר גפן. הכנס לפיך את שלושת המקלונים, כך שהקצוות המכוסים בצמר גפן יהיו מתחת לשונך. המתן שהמקלונים בפיך כ-3 דקות.
- ג. באמצעות עט לסימון זכוכית, סמן 3 מבחנות באותיות א-ג.
- ד. על כוס לשימוש חד-פעמי רשום "תמיסת מים ורוק". באמצעות פיפטה של 5 מ"ל (או של 10 מ"ל), העבר 4 מ"ל מים מזוקקים אל הכוס.

ה. לאחר כ- 3 דקות העבר את המקלוניס מפיך אל הכוס, כך שהקצוות שהיו מתחת ללשונך יהיו טבולים במים.

- טלטל בזהירות את הכוס במשך כדקה. הטלטול יגרום לרוק שנספג בצמר גפן להתערבב מהר יותר במים.

- הוצא את המקלוניס מהכוס, וזרוק אותם לכלי הפסולת.

#### בדיקת ההשפעה של ריכוז הרוק על פירוק עמילן

ו. סמן 2 פיפטות פסטר: על אחת מהן רשום "רוק", ועל האחרת רשום "מים". עליך להעביר למבחנות א, ב, ג את הנוזלים המפורטים בטבלה 1 בנפחים הרשומים בה. עבור בסדר הזה:

- באמצעות הפיטה המסומנת "רוק" העבר את תמיסת המים והרוק מהכוס למבחנות.

- באמצעות הפיטה המסומנת "מים", העבר מים מזוקקים למבחנות.

- על שולחן פיטה המסומנת "עמילן" וכלי המסומן "עמילן". טלטל את הכלי קלות.

- באמצעות הפיטה המסומנת "עמילן", העבר עמילן מהכלי לשלוש המבחנות.

- טלטל קלות כל אחת משלוש המבחנות.

התהליך החל ברגע שבו הוספת את העמילן למבחנות. המתן 4 דקות.

בזמן ההמתנה בצע את ההוראות בסעיפים ז ו-ח.

#### טבלה 1: השפעת נפח הרוק על פירוק עמילן

6	5	4	3	2	1
מידת פירוק העמילן (פירוק מלא, פירוק חלקי, פירוק מועט, אין פירוק)	צבע הדגימה לאחר הוספת תמיסת יוד	נפח העמילן (טיפות)	נפח המים (מ"ל) (טיפות)	נפח תמיסת מים ורוק (טיפות)	המבחנה
		2	0	25	א
		2	20	5	ב
		2	25	0	ג

ז. לרשותך צלחת לשימוש חד-פעמי, ועליה 3 עיגולים המסומנים באותיות א, ב, ג. העבר טיפה אחת של תמיסת יוד לכל אחד משלושת השקעים (או העיגולים).

ח. טלטל קלות את המבחנות א, ב, ג. הכנס לכל אחת מהן פיפטת פסטר נקייה.

- לאחר 4 דקות עבור לסעיף ט.

ט. טלטל קלות את מבחנה א', ובאמצעות פיפטת הפסטר שבתוכה, שאב מעט נוזל. טפטף

טיפה אחת מהנוזל שבמבחנה א' על טיפת היוד בעיגול א, והחזר את הפיטה למבחנה.

י. חזור על הוראות סעיף ט עם מבחנה ב ועיגול ב, ועם מבחנה ג ועיגול ג.

### **תצפית:**

- התבונן בצבע הנוזל בכל אחד מהעיגולים. אם אין הבדל בתוצאות הבדיקות של הדגימות ממבחנות ב-ו-ג, המתן 2 דקות נוספות, וחזור שוב על ההוראות שבסעיפים ז, ט-י בשלושה שקעים נקיים שתסמן באותיות א, ב, ג (או בצלחת נקייה מסומנת).

### **מסקנה:**

- הרוק שלנו מכיל אנזים אחד בלבד, עמילאז, אשר מפרק עמילן שנמצא במזונות שונים לדו-סוכר שנקרא מלטוז. ניתן לעקוב אחר תהליך זה באמצעות תהליך של שינוי צבע: יוד צובע עמילן בצבע כחול-סגול כהה. יוד לא משנה את צבעו בנוכחות מלטוז. לכן, כאשר מוסיפים יוד לרוק (שמכיל עמילאז) שמעורבב עם עמילן, בתחילה, מקבלים צבע כחול-סגול. עם התקדמות התהליך, הצבע אחרי הוספת יוד, נעשה בהיר יותר עם גוון אדמדם כתוצאה מנוכחות חומרי ביניים שנוצרים בתהליך. כאשר התהליך מושלם, כשכל העמילן כבר התפרק למלטוז, אין יותר צבע במבחנה חוץ מצבעו המקורי של היוד.

### **Disposal:**

- לשמור את קסמי האוזניים בתוך שקית ניילון קטנה.

## מעבדה מס' 16: נשימה או תסיסה

### בטיחות:

לא צריך להרתיח את המים אלא לחמם עד לטמפרטורה של  $30^{\circ}\text{C}$  בלבד.

### ציוד:

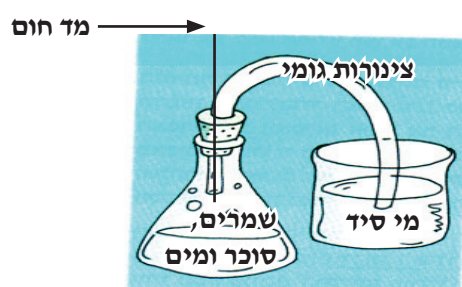
- ארלנמאייר (בקבוק קוני) בנפח 100 מ"ל
- כוס כימית בנפח 50 מ"ל
- משורה
- צינורית גומי
- מד חום
- עט סימון

### חומרים:

- שמרים.
- סוכר.
- מים פושרים ( $30^{\circ}\text{C}$ ).
- חול שחומם מראש ל- $130^{\circ}\text{C}$  וקורר לטמפי' החדר.
- מי סיד צלולים  $[\text{Ca}(\text{OH})_2]$ .

### הכנה:

- רושמים על הארלנמאייר "אורגני".
- לתוך הארלנמאייר מכינים תערובת של כפית שמרים, כפית סוכר ו 30 מ"ל מים פושרים ( $30^{\circ}\text{C}$ ).
- סוגרים את הבקבוק בפקק עם צינורית גומי ומד חום.
- ממלאים כוסית כימית ב 50 מ"ל מי סיד צלולים וטובלים בה את קצה צינורית הגומי. (ראה תמונה 1).



תמונה 1: מערכת ניסוי א' שלבים 1-2





## מעבדה מס' 17: נשימה בצמחים האומנם?

### בטיחות:

- לעבוד בזהירות עם המים החמים.

### ציוד:

- כוס כימית 100 מ"ל.
- מבחנות זכוכית.
- כדורי זכוכית.
- מתקן חימום חשמלי.
- מד חום.
- עט סימון.

### חומרים:

- פרי פלפל טרי.
- פרי פלפל שהורתח במשך 15 דקות.
- תמיסת האנדיקטור פנול פתאלין.

### הכנה:

- סמן שלוש מבחנות במספרים 1-3.
- לכל מבחנה הוסף 10 טיפות מהאנדיקטור פנול פתאלין.
- לכל מבחנה הוסף כדורי זכוכית עד לגובה 5 ס"מ מעל לאנדיקטור (איור 1).
- הכן בכוס כימית אמבט מים בטווח טמפרטורות  $37^{\circ}\text{C} - 40^{\circ}\text{C}$ .



איור 1

1. חתוך הפלפל הטרי לריבועים קטנים כך שתוכל להכניס ולמלות מבחנה מספר 1.
2. חתוך הפלפל המורתח לריבועים קטנים כך שתוכל להכניס ולמלות מבחנה מספר 2.
3. למבחנה מספר 3 אל תוסיף פלפל.
4. סגור את שלושת המבחנות 1-3 בנייר פרפילם.
5. הכנס שלושת המבחנות לאמבט המים שהכנת ורשום זמן ההתחלה.
6. עקוב במשך 10 דקות אחר צבע האנדיקטור פנול פתאלין במבחנות.
7. רשום את הזמן בו נעלם צבע האנדיקטור פנול פתאלין.

### **תצפית:**

גז  $CO_2$  שנפלט בתהליך הנשימה, מגיב עם האנדיקטור פנול פתאלין שהופך מצבע וורוד לחסר צבע. משך הזמן שעובר עד היעלמות הצבע הוורוד מעיד על קצב הנשימה בתאי הפלפל.

### **מסקנה:**

- במבחנה מספר 1 הצבע הוורוד של האנדיקטור פנול פתאלין נעלם, מה שמעיד על קיום תהליך הנשימה ויצירת  $CO_2$ .
- במבחנות 2 ו' 3 הצבע לא נעלם, כי לא נוצר  $CO_2$  מה שמעיד שלא התקיים תהליך נשימה.

### **Disposal:**

לא לדחוס את ריבועי הפלפל במבחנות 1-2.  
באמבט המים להקפיד לשמור על טווח טמפרטורות  $37^{\circ}C - 40^{\circ}C$ .

## מעבדה מס' 18: חומר אורגני בקרקע

### בטיחות:

- לעבוד בזהירות עם מי החמצן ( $H_2O_2$ ).

### ציוד:

- כוס כימית בנפח 50 מ"ל.
- משורה בנפח 100 מ"ל.
- מד חום.
- עט סימון.

### חומרים:

- אדמה מפוררת.
- אדמה מפוררת שחוממה מראש ל- $130^{\circ}C$  וקורר לטמפי' החדר.
- מי חמצן ( $H_2O_2$ ) בריכוז 3%.

### הכנה:

- רושמים על כוס כימית ומשורה "אורגני".
- לתוך הכוס הכימית המסומנת "אורגני" מפוררים אדמה שאספנו מקרבת מקום.
- ממלאים את חצי המשורה המסומנת "אורגני" באדמה המפוררת.
- רושמים על כוס כימית ומשורה "איאורגני".
- לתוך הכוס הכימית המסומנת "איאורגני" מפוררים אדמה שחוממה מראש ל- $130^{\circ}C$  וקוררת לטמפי' החדר.
- ממלאים את חצי המשורה המסומנת "איאורגני" באדמה המפוררת.

### ניסוי:

1. לכל משורה הוסף בזהירות מי-חמצן 3% כך שלאחר שיחלחלו יהיו כ- 2 ס"מ מעל פני האדמה.
2. בדוק את עוצמת התגובה על ידי כמות הקצף שנוצר (ככל שכמות החומר האורגני בקרקע גדולה יותר כך גובה הקצף יהיה יותר).

## **תצפית:**

כל סוג של קרקע מכיל במידה מסוימת חומר אורגאני, שמקורו בשאריות של בעלי חיים, צמחים וכו'. החומר האורגאני בקרקע מספק מזון ליצורים רבים בה ובניהם מיקרואורגניזמים בעיקרם אנאירוביים שמכילים בתאיהם את האנזים קטלאז (catalase), המזרז את פירוקם של מי החמצן. כאשר מוסיפים מי החמצן הוא מתפרק למים ולחמצן, החמצן הנפלט יוצר בועות הנראות כקצף. במקביל ישנה גם עליה בטמפרטורה.

## **מסקנה:**

קבלת הקצף ועוצמתו במשורה המכילה חומר אורגאני מעידה על פעילות האנזים catalase בתאי המיקרואורגניזמים.

## **Disposal:**

- יש להקפיד ששתי מערכות הניסוי יהיו זהות זו לזו מלבד החלפת סוג האדמה בכל משורה.
- יש להקפיד לרשום את השינויים בקצף ובטמפרטורה.

## מעבדה מס' 19: חלוקת התא - מיטוזה

### בטיחות:

לעבוד בזהירות עם סכין הגילוח והחומצה HCl.

### ציוד:

- כוסות חד פעמיות.
- נייר סופג.
- בקבוק כימי.
- מלקחיים.
- עט סימון.
- זכוכית נושאת.
- סקלפל או סכין גילוח.
- מיקרוסקופ אור.

### חומרים:

- מים מזוקקים.
- תמיסת HCl 10%.
- תמיסת Carnoy's.
- תמיסת 1% Toluidine blue (TB).

### הכנה:

- בתוך בקבוק כימי מכינים 100 mL תמיסת Carnoy's ע"י הוספת:
  - 60% ethanol
  - 30% chloroform
  - 10% glacial acetic acid
- משרים בצל בתוך כוס מים עד לקבלת שורשים
- כותבים על כוס חד פעמית "HCl" (חומצת מלח). ומוזגים HCl מספיק עד שמכסים את תחתית הכוס.
- כותבים על כוס שניה "Carnoy" ומוזגים מספיק מהנוזל "Carnoy" עד שמכסים את תחתית הכוס.

## ניסוי:

1. משתמשים במלקחיים להעברת קצה שורש הבצל לתוך הכוס שמכילה HCl. משאירים למשך 4 דקות.
2. לאחר 4 דקות, מעבירים את השורש לתוך הכוס שמכילה נוזל "Carnoy" ומשאירים למשך 4 דקות. בתום הזמן מעבירים את השורש מן הנוזל ומניחים אותו על זכוכית נושאת.
3. עם סכין גילוח, חותכים רק קצה השורש (בין 1-2 מ"מ) וזורקים את כל השאר.
4. מכסים את קצה השורש עם כמה טיפות מהצבע הכחול "toluidine blue" ומשאירים למשך 2 דקות.
5. אחרי 2 דקות, מרחיקים את שאריות הצבע עם מגבת נייר. אין לגעת בקצה השורש עם האצבעות או כל דבר אחר מאשר מגבת נייר.
6. אחרי הרחקת שאריות הצבע, מכסים את קצה השורש עם 2 טיפות מים ומחליקים בעדינות זכוכית מכסה על קצה השורש.
7. מכסים את הזכוכית עם פיסת נייר סופג ולוחצים היטב (בלי לסובב) עד שהתאים יתפשטו בשכבה אחת.
8. מניחים את הפרפרט מתחת למיקרוסקופ ומסתכלים עד שמבחינים בשלבי החלוקה של התא.

## תצפית:

כל סוגי התאים החיים מתחלקים. **מיטוזה** (Mitosis) (מלשון **מיטוס** - "חוט" ביוונית) תהליך רציף במחזור התא שבו מתחלק גרעין התא לשני גרעינים שבכל אחד מהם מצויים בסופו של תהליך מספר שווה של כרומוזומים, אשר זהה למספר הכרומוזומים שהיו בגרעין התא לפני החלוקה. כמו כן, תהליך המיטוזה הוא הבסיס לגדילה ולרבייה אל-זוויגית בתאים אאוקריוטיים.

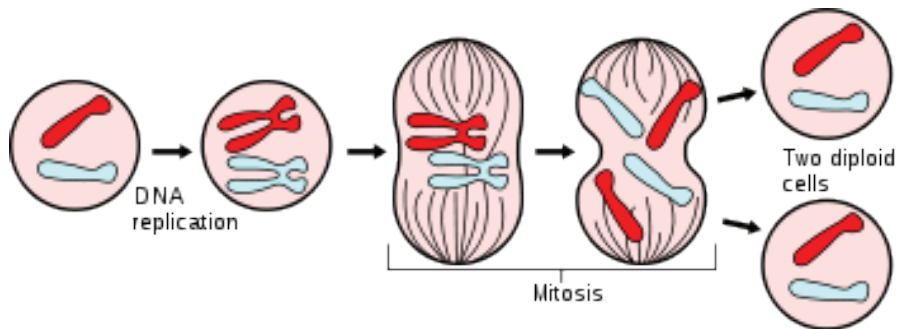
בכדי לעקוב אחרי שלבי חלוקת התא בעזרת מיקרוסקופ עלינו לבחור ברקמה מתחלקת. לכן בחרנו להשתמש בקצה שורש בצל שבאופן הסתברותי ניתן להבחין בסבירות גבוהה בתאים מתחלקים, כי באזור הזה התאים מתחלקים בקצב נמרץ.

## מסקנה:

בכדי לראות (בעזרת מיקרוסקופ) את הכרומוזומים של התא ושלבי החלוקה השונים עלינו לבחור רקמת תאים מתחלקת (קצה שורש הבצל) ולצבוע אותם בצבע ספציפי לכרומוזומים.

## :Disposal

- יש להקפיד לקחת את קצה השורש לצביעה.
- יש להקפיד בשלב 7 לא לסובב כאשר לוחצים ומועכים את שורש הבצל.



**סכימה המתארת את שלבי חלוקת התא - מיטוזה**

## ניסוי מס' 20: חיפוש אחרי הגן המקודד לאנזים Ascorbate peroxidase (APX) ע"י השימוש בשיטת PCR.

### בטיחות:

- לעבוד כל הזמן בזהירות ועם כפפות.
- בעת הכנת הגיל אגרוז יש לחבוש כפפות עמידות בחום.
- בעת צילום הגיל אגרוז במנורת U.V יש לחבוש משקפי מגן.

### ציוד:

- כוסות כימיות.
- נייר סופג.
- בקבוק כימי.
- עלי ומכתש.
- מלקחיים.
- עט סימון.
- מבחנות אפנדורף.
- פפטורים וטיפים.
- כפפות.
- מכשיר PCR.
- מיקרוגל.
- מכשיר הרצת ג'לים (אלקטרופוריזה) וספק כוח חשמלי.
- מנורת U.V ומשקפי מגן.
- מצלמה.

### חומרים:

- מים מזוקקים.
- חומר צמחי.
- קיט הפקת DNA הצמחי.
- סמן גודל (DNA ladder).
- פרימרים (primers).



- קיט PCR.
- אבקת אגרוז.
- תמיסת בופר 0.5xTAE (Tris acetate EDTA buffer).
- תמיסת איתדיום ברומיד (10 µg/ml).

### שלב 1: הפקת DNA גנומי מרקמה צמחית:

ה-DNA הצמחי מופק משורשים, עלים, פירות ע"י השימוש בקיט המסחרי NucleoSpin® Plant Kit (Macherey-Nagel, Hidlen, Germany). בהתחלה מרסקים את הרקמה במכתש ועלי וממשיכים בשלבי ההפקה לפי הוראות היצרן המצורפות לקיט עד לקבלת DNA נקי. DNA זה ישמש תבנית להגברת הגן Apx במכשיר ה-PCR.

### שלב 2: רצף הפריימרים שימשו להגברת הגן Apx

Gene	GeneBank Accession number	Primer sequence:
Apx	DQ099420	Forward 5'CTTATCGCTTTTCCATTTCTGCTTCTTCAG 3'
		Reverse 5'AATATGTCACCACTCCCAGCTCTT 3'

### שלב 3: PCR - מהלך הניסוי:

1. סמן מבחנת אפנדורף 1.5 מ"ל ב-"MIX".
2. במבחנה זו הכין תערובת חומרים לריאקציה PCR (+ אחת בעודף).

### תערובת ראקציה PCR:

	X1
PCR bufferx10	µl 10
dNTPs	µl 5
Forward primer	µl 3
Reverse primer	µl 3
Taq polymerase	µl 2.5
DNA Template	µl 1.5-0.5
DDW	µl 25 To
<b>Total volume</b>	<b>µl 25</b>

בה לא, C (Control) נוספת באות PCR בהתאם לניסוי וסמן מבחנת PCR סמן מבחנות PCR-והיא תהווה ביקורת לניקיון ריאקציה ה DNA להוסיף

3. חלק  $25 \mu\text{l}$  מתערובת הריאקציה לכל מבחנת-PCR. סגור פקק המבחנה והניח על גבי קרח.



### תכנית הריאקציה במכשיר ה-PCR:

1.  $94^{\circ}\text{C}$  - 5min
2.  $94^{\circ}\text{C}$  - 30sec
3.  $55^{\circ}\text{C}$  - 30sec
4.  $72^{\circ}\text{C}$  - 30sec - to step 2, 35 cycles
5.  $72^{\circ}\text{C}$  - 7min

### שלב 3: הכנת תמיסת אגרוז (1%)

אגרוז הינו פוליסכריד ליניארי שמקורו מאצות. בנוי מיחידות של אגרובינוז עם הסתעפויות של גלקטוז ו-3,6-אנהידרוגלקטוז.

להכנת גילים משתמשים בריכוז שבין 0.2% ל-3% אגרוז מומס בבופר. ככל שריכוז האגרוז גבוה יותר הגיל יותר "נוקשה" והפרדת הדוגמאות תהיה איטית יותר אך מדויקת יותר. גילים העשויים מאגרוז קלים להכנה ואינם רעילים אבל מאוד שבירים.

1. הוסף לארלנמייר נקי 1 גרם אבקת אגרוז ו-100 מ"ל תמיסת בופר  $0.5 \times \text{TAE}$  (Tris acetate EDTA buffer) (לקבלת 1% אגרוז).
2. חמם את הכלי עד אשר האגרוז ניתך (במיקרוגל 30-40 שניות בעצמה מלאה).
3. טלטל בעדינות את הכלי עד להומוגניות התמיסה.
4. קרר את תמיסת הגיל מעט (בערך דקה, עד שאפשר לגעת ביד).
5. הוסף לגיל תמיסת איתדיום ברומיד ( $10 \mu\text{g/ml}$ ).

### יציקת ג'ל אגרוז

1. הכן מגש היציקה ומקמו במצב אופקי מפולס כשהמסרק ממוקם במרכז המגש.
2. צוק כ-40 מ"ל לתוך המגש. הנח לגיל להיקרש במשך 15 דקות.

3. הוצא בזהירות את המסרק, והנח את המגש במכשיר האלקטרופורזה להרצה כאשר הבארות בצד הקוטב החיובי.
4. כשהגיל בתוך המכשיר מלא אותו בתמיסת בופר הרצה 0.5xTAE עד שיכסה הגיל כולו.

### שלב 4: זיהוי תוצרי ה-PCR בגיל אגרוז

1. הטעין את הדגימות בבארות שבגיל האגרוז. הקפיד לרשום לפניך את סדר ההטענה של כל הדוגמאות. בסוף כל שורה יוטען סמן גודל (תמונה 1).
2. הפעיל את ספק הכוח להרצה ב-100V למשך 30 דקות.
3. בסוף ההרצה צלם במתקן לצילום גילים בזמן חשיפה לאור U.V. סמן בקפדנות את שמות הדוגמאות לפי סדר ההרצה.



תמונה 1: סמן להערכת גודל המקטע המוגבר

### :Disposal

- יש להקפיד לעבוד כל הזמן בכפפות.
- יש להקפיד לא לגעת בגיל אגרוז בידיים חשופות לאחר הוספת תמיסת איתדיום ברומיד.
- חשוב מאוד בזמן צילום הגיל לחבוש משקפי הגנה מפני U.V.

