Amali Fotosintesis 2: Pengapungan Cakera Daun dan Kitar Calvin

Draf untuk larian rintis. Semua kuantiti dan masa adalah sementara sehingga disahkan dalam larian rintis.

Tujuan

Mengkaji kesan persekitaran cahaya dan kepekatan natrium bikarbonat terhadap pengapungan cakera daun bayam, yang diukur sebagai anggaran masa untuk separuh daripada cakera daun terapung (estimated time for 50% of discs to float, ET50).

Konsep

Daun mengandungi ruang udara antara sel. Apabila udara ini dikeluarkan dengan picagari dan digantikan dengan larutan, cakera daun menjadi lebih tumpat lalu tenggelam. Di bawah cahaya, tindak balas cahaya memecahkan molekul air dan membebaskan oksigen. Oksigen terkumpul semula dalam ruang udara antara sel, lalu cakera daun terapung semula.

Picagari digunakan untuk mengeluarkan udara itu. Apabila muncung (hujung) picagari ditutup dan pelocok ditarik, ruang di dalam picagari bertambah besar tetapi tiada udara boleh masuk, jadi tekanan di dalamnya menurun (vakum). Udara dalam ruang udara antara sel daun mengembang dan keluar sebagai gelembung kecil. Apabila pelocok dilepaskan, tekanan kembali normal dan menolak larutan masuk ke dalam ruang yang ditinggalkan oleh udara.

Natrium bikarbonat ($NaHCO_3$) membekalkan karbon tak organik terlarut. Dalam larutan, ion bikarbonat (HCO_3^-) berada dalam keseimbangan dengan sedikit karbon dioksida (CO_2) terlarut, iaitu bentuk karbon yang diikat dalam kitar Calvin. Kitar Calvin di dalam stroma kloroplas mengikat CO_2 dan menukarkannya kepada gula dengan menggunakan adenosina trifosfat (ATP) dan nikotinamida adenina dinukleotida fosfat (NADPH) daripada tindak balas cahaya. Apabila bekalan CO_2 terhad, kadar pengikatan karbon dalam kitar Calvin boleh berkurang. Keadaan ini boleh mengurangkan penggunaan ATP dan NADPH serta mempengaruhi penjanaan semula adenosina difosfat (ADP) dan $NADP^+$. Hubungan antara kitar Calvin dengan tindak balas cahaya bermaksud kekurangan karbon juga boleh mempengaruhi pengangkutan elektron dan penghasilan oksigen, tetapi kesannya bergantung pada keadaan fisiologi daun.

Cakera daun juga menjalankan respirasi yang menggunakan oksigen. Maka, pengapungan menunjukkan **fotosintesis bersih**, iaitu oksigen yang dihasilkan tolak oksigen yang digunakan. Dalam amali ini, istilah fotosintesis bersih merujuk kepada keseimbangan antara penghasilan oksigen melalui fotosintesis dan penggunaan oksigen melalui proses seperti respirasi.

Penting: cakera daun terapung kerana daya apungnya berubah apabila oksigen terkumpul. Kaedah ini tidak mengukur kadar kitar Calvin secara langsung. Ia memberi petunjuk tidak langsung tentang kadar fotosintesis bersih.

Pemboleh ubah

- **Dimanipulasikan:** dua faktor, iaitu persekitaran cahaya, sama ada rak lampu diod pemancar cahaya (LED) spektrum penuh atau cahaya matahari, dan kepekatan natrium bikarbonat (0% iaitu kawalan tanpa tambahan natrium bikarbonat, 0.1%, 0.5% dan 1.0%)
- **Bergerak balas:** bilangan cakera daun terapung setiap minit, dan ET50
- **Dimalarkan:** jenis sayur (satu jenis bagi semua rawatan dan sesi), umur daun, alat penebuk dan saiz cakera, bilangan cakera setiap cawan (10), jenis cawan, isi padu larutan setiap cawan (100 mL), jumlah sabun (1 titis setiap 300 mL), kaedah penyusupan vakum, tempoh dalam gelap sebelum mula (sesingkat yang boleh, dengan susunan penyediaan dirawakkan), dan sumber air
- **Tidak dikawal, untuk perbincangan:** suhu larutan. Suhu direkodkan tetapi tidak dikawal, supaya kelebihan dan kekurangan setiap persekitaran cahaya dapat dibincangkan.

Reka bentuk eksperimen: dua faktor

Seperti Amali 1, ini ialah eksperimen faktorial. Bilangan rawatan = 2 aras persekitaran cahaya × 4 aras kepekatan = 8 rawatan. Aras 0% (tanpa tambahan natrium bikarbonat) ialah kawalan bagi setiap persekitaran cahaya.

Rawatan	Persekitaran cahaya	Natrium bikarbonat	Label cawan
1	LED	0% (kawalan tanpa tambahan natrium bikarbonat)	L-00-1, L-00-2, L-00-3
2	LED	0.1%	L-01-1, L-01-2, L-01-3
3	LED	0.5%	L-05-1, L-05-2, L-05-3
4	LED	1.0%	L-10-1, L-10-2, L-10-3
5	Matahari	0% (kawalan tanpa tambahan natrium bikarbonat)	M-00-1, M-00-2, M-00-3
6	Matahari	0.1%	M-01-1, M-01-2, M-01-3
7	Matahari	0.5%	M-05-1, M-05-2, M-05-3
8	Matahari	1.0%	M-10-1, M-10-2, M-10-3

Kod label: L = LED, M = matahari, 00 = 0%, 01 = 0.1%, 05 = 0.5%, 10 = 1.0%, dan nombor akhir ialah ulangan.

- Setiap cawan mengandungi 10 cakera daun.
- Ulangan 1, 2 dan 3 dijalankan dalam tiga sesi berasingan pada hari yang berbeza, dengan daun dan larutan yang baharu. Ini menjadikan setiap ulangan bebas. Bagi mengurangkan variasi antara sesi, gunakan jenis sayur yang sama dan, jika boleh, sumber daun yang sama sepanjang eksperimen. Rekodkan tarikh, sumber dan keadaan daun bagi setiap sesi. Perbezaan antara hari masih boleh menyumbang kepada variasi keputusan.
- Dalam setiap sesi, kelapan-lapan cawan (4 di stesen LED dan 4 di stesen matahari) dimulakan serentak.
- Cakera yang dikira = 8 rawatan × 3 ulangan × 10 cakera = 240 cakera. Cakera yang ditebuk = 8 cawan × 15 cakera × 3 sesi = 360 cakera, iaitu 120 cakera bagi setiap sesi.

- Kawalan 0% bermaksud tiada natrium bikarbonat ditambah. Air paip masih mengandungi sedikit karbon terlarut, jadi cakera kawalan mungkin terapung juga, tetapi dijangka lebih perlahan.

Perhatian: cahaya matahari dan lampu LED berbeza dari segi keamatan, spektrum dan haba. Faktor ini membandingkan dua persekitaran cahaya, bukan keamatan cahaya sahaja. Keamatan LED tidak dipadankan dengan cahaya matahari, dan suhu tidak dikawal. Kedua-duanya dicatat dan dibincangkan dalam laporan.

Mengapa menguji dua faktor serentak?

Kesan kepekatan natrium bikarbonat mungkin bergantung pada persekitaran cahaya. Contohnya, natrium bikarbonat mungkin memberi kesan yang lebih besar di bawah cahaya matahari yang kuat, kerana kitar Calvin lebih mungkin dihadkan oleh bekalan karbon apabila cahaya banyak. Keadaan ini dipanggil interaksi, dan ia hanya dapat dikesan jika semua gabungan diuji.

Pemilihan sayur

Gunakan bayam atau sayur lain yang berdaun lembut dan nipis, kerana daun seperti ini mudah diisi larutan dengan picagari. Daun yang tebal, berlilin atau berbulu sukar tenggelam.

- Pilih satu jenis sayur sahaja dan gunakan bagi semua rawatan dalam ketiga-tiga sesi.
- Rekodkan nama tempatan sayur itu, dan nama saintifiknya jika diketahui.
- Gunakan daun yang sihat, matang sepenuhnya dan lebih kurang sama saiz. Elakkan urat besar dan bahagian yang rosak.
- Pastikan daun kekal segar dan lembap sebelum ditebuk: simpan di tempat teduh dengan tangkai di dalam air, atau bungkus dengan tisu yang lembap.

Syarat cahaya

- **Cahaya matahari:** jalankan sesi pada hari cerah, kira-kira pukul 9 hingga 11 pagi. Sebelum mula, ukur cahaya di paras cawan dengan aplikasi meter cahaya pada telefon. Mulakan hanya jika bacaan melebihi 10,000 lux. Had 10,000 lux ialah kriteria operasi untuk memilih keadaan cahaya matahari yang sesuai, bukan nilai minimum fotosintesis yang telah dibuktikan. Bacaan aplikasi telefon ialah anggaran dan boleh berbeza antara peranti, jadi gunakan telefon dan aplikasi yang sama bagi semua sesi jika boleh.
- **LED:** gunakan satu tingkat rak lampu LED spektrum penuh, dengan jarak lampu ke cawan yang sama bagi semua cawan.
- Ukur cahaya di setiap kedudukan cawan di kedua-dua stesen dengan aplikasi yang sama, pada minit 0 dan setiap 5 minit. Rekodkan bacaan dalam lux. Cara mengukur: letakkan telefon mendatar di sebelah cawan pada paras permukaan larutan, dengan skrin menghadap ke atas, kerana sensor cahaya biasanya terletak berhampiran kamera hadapan. Jangan bayangi telefon dengan badan atau tangan, dan tunggu sehingga bacaan stabil sebelum mencatat.
- Lux diukur mengikut kepekaan mata manusia, jadi bacaan lux bagi LED dan cahaya matahari tidak boleh dibandingkan secara langsung. Jika sensor kuantum LI-COR tersedia, rekodkan juga ketumpatan fluks foton fotosintesis (PPFD) sebagai maklumat tambahan.

Peranan dalam kumpulan

Cawan LED berada di dalam makmal dan cawan matahari di luar, jadi setiap sesi memerlukan dua stesen.

Peranan	Bilangan	Tugas
Pemegang pemasa utama	1	Memulakan pemasa yang diselaraskan di kedua-dua stesen dan merekod masa mula sebenar
Pengira	1 setiap stesen	Mengira cakera terapung dalam empat cawan stesennya setiap minit
Perekod	1 setiap stesen	Mengukur cahaya dan suhu setiap 5 minit
Kamera	1 setiap stesen	Telefon pada tripod, merakam berterusan dengan jam kelihatan

Sebelum larian sebenar, kedua-dua pengira mengira cakera dalam video pendek yang sama secara berasingan, pada beberapa minit. Jika kiraan mereka berbeza, bincang definisi "terapung" dan ulang.

Peralatan pelindung diri

Amali ini tidak menggunakan pelarut mudah terbakar, dan larutan natrium bikarbonat yang cair tidak berbahaya. Walau bagaimanapun:

- Pakai cermin mata keselamatan dan kot makmal.
- Berhati-hati semasa menggunakan straw tegar atau penebuk gabus.
- Letakkan cawan dan bikar jauh daripada sambungan elektrik rak LED supaya air tidak tumpah ke atasnya.
- Di stesen matahari, pakai topi, bawa air minuman dan berteduh apabila tidak membuat bacaan.
- Larutan yang telah digunakan boleh dibuang ke dalam sinki dengan banyak air.

Bahan dan radas

Bahan atau radas	Kegunaan
Daun bayam atau sayur berdaun lembut yang segar	Sumber cakera daun
Natrium bikarbonat (soda penaik)	Sumber karbon tak organik terlarut
Sabun pencuci pinggan cecair	Mengurangkan tegangan permukaan supaya larutan mudah masuk ke dalam daun
Straw minuman yang tegar atau penebuk gabus (ukur dan rekod diameternya)	Menebuk cakera daun yang sama saiz, kira-kira 6 mm
Picagari plastik 10 mL tanpa jarum, 4 buah, satu bagi setiap kepekatan, dilabel dengan pita berwarna	Penyusupan vakum
Bikar berlabel, 4 buah, satu bagi setiap kepekatan	Menyimpan larutan
Cawan plastik jernih yang sama jenis, 10 buah (8	Bekas cakera daun; 100 mL larutan memberi

Bahan atau radas	Kegunaan
cawan rawatan dan 2 cawan suhu), kira-kira 250 mL, dasar sekurang-kurangnya 6 cm	kedalaman kira-kira 3.5 cm
Berus cat lembut	Memindahkan cakera tanpa merosakkannya
Papan pemotong	Alas semasa menebuk daun
Batang lidi yang tumpul	Menolak keluar cakera daripada straw
Bekas kecil, 4 buah (contohnya piring petri), satu bagi setiap kepekatan	Menyimpan cakera dalam larutan sebelum penyusupan vakum
Pen kekal dan pita berwarna	Melabel picagari, bikar dan cawan, dan menanda garisan 10 mL pada picagari
Air paip daripada sumber yang sama	Menyediakan semua larutan dan mengisi cawan suhu
Meter pH (pilihan)	Merekod pH setiap larutan
Kerajang aluminium	Menutup cawan dalam gelap sebelum mula
Rak lampu LED spektrum penuh	Persekitaran cahaya LED
Telefon dengan aplikasi meter cahaya	Mengukur cahaya dalam lux
Sensor kuantum LI-COR (pilihan)	Mengukur PPFD
Termometer, 4 buah (2 untuk cawan suhu dan 2 untuk bacaan cawan rawatan)	Mengukur suhu larutan
Pemasa atau telefon, 2 buah, dan tripod telefon, 2 buah	Pemasa diselaraskan dan rakaman video
Penimbang elektronik (bacaan 0.01 g) dan silinder penyukat (500 mL dan 100 mL)	Menyediakan larutan dan menyukat 95 mL larutan bagi setiap cawan
Air suling	Membilas picagari selepas sesi

Prosedur

A. Sediakan larutan (300 mL setiap kepekatan)

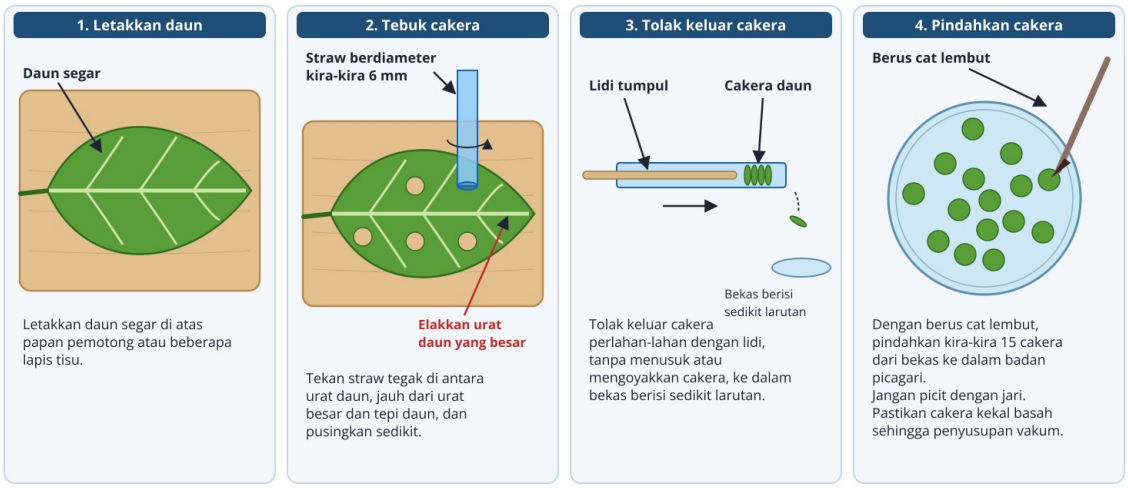
Setiap kepekatan digunakan oleh 2 cawan (satu di stesen LED dan satu di stesen matahari). Isi padu akhir setiap cawan ialah 100 mL, termasuk kira-kira 5 mL larutan daripada picagari. Keperluan setiap sesi = 2 cawan × 100 mL = 200 mL. Oleh itu, 300 mL mencukupi, dengan lebihan kira-kira 100 mL jika penyusupan vakum perlu dibahagikan kepada kumpulan kecil.

Cara melarutkan: timbang natrium bikarbonat di atas penimbang elektronik, masukkan ke dalam bikar berlabel, tambah kira-kira 250 mL air dan kacau perlahan sehingga tiada hablur kelihatan. Kemudian tuang ke dalam silinder penyukat dan tambah air sehingga tepat 300 mL. Tuang semula ke dalam bikar berlabel dan tutup.

1. 0% (kawalan): sediakan 300 mL air daripada sumber yang sama seperti rawatan lain, tanpa tambahan natrium bikarbonat. Sabun ditambah dalam kuantiti yang sama seperti rawatan lain (langkah 5).
2. 0.1%: larutkan 0.3 g natrium bikarbonat dalam air hingga 300 mL, kerana 0.3 ÷ 300 × 100 = 0.1%.
3. 0.5%: larutkan 1.5 g dalam air hingga 300 mL, kerana 1.5 ÷ 300 × 100 = 0.5%.
4. 1.0%: larutkan 3.0 g dalam air hingga 300 mL, kerana 3.0 ÷ 300 × 100 = 1.0%. Kepekatan 1.0% bersamaan kira-kira 119 milimolar (mM), kerana 3.0 g ÷ 84 g/mol (jisim molar natrium bikarbonat) = 0.0357 mol, dan 0.0357 mol ÷ 0.3 L = 0.119 mol/L = 119 mM. Kepekatan ini digunakan sebagai rawatan kepekatan tinggi untuk diuji dalam larian rintis. Peningkatan kepekatan natrium bikarbonat bukan sahaja mengubah bekalan karbon tak organik terlarut, tetapi juga boleh mengubah pH dan keadaan osmosis larutan. Oleh itu, kepekatan yang lebih tinggi tidak semestinya menghasilkan pengapungan yang lebih cepat. Rekodkan pH setiap larutan jika meter pH tersedia. Larian rintis perlu menentukan sama ada cakera daun kekal dalam keadaan baik dan menunjukkan gerak balas yang boleh ditafsirkan.
5. Tambah tepat 1 titis sabun pencuci pinggan ke dalam setiap 300 mL larutan, termasuk kawalan 0%, dan kacau perlahan tanpa membuih. Jangan tambah sabun lagi walaupun cakera sukar tenggelam.
6. Gunakan sumber air yang sama untuk semua larutan, contohnya air paip daripada paip yang sama. Sediakan larutan yang baharu setiap sesi, tutup apabila tidak digunakan, dan elakkan mengacau dengan kuat.
7. Gunakan larutan yang sama untuk penyusupan vakum dan untuk mengapungkan cakera dalam cawan.

B. Tebuk cakera daun

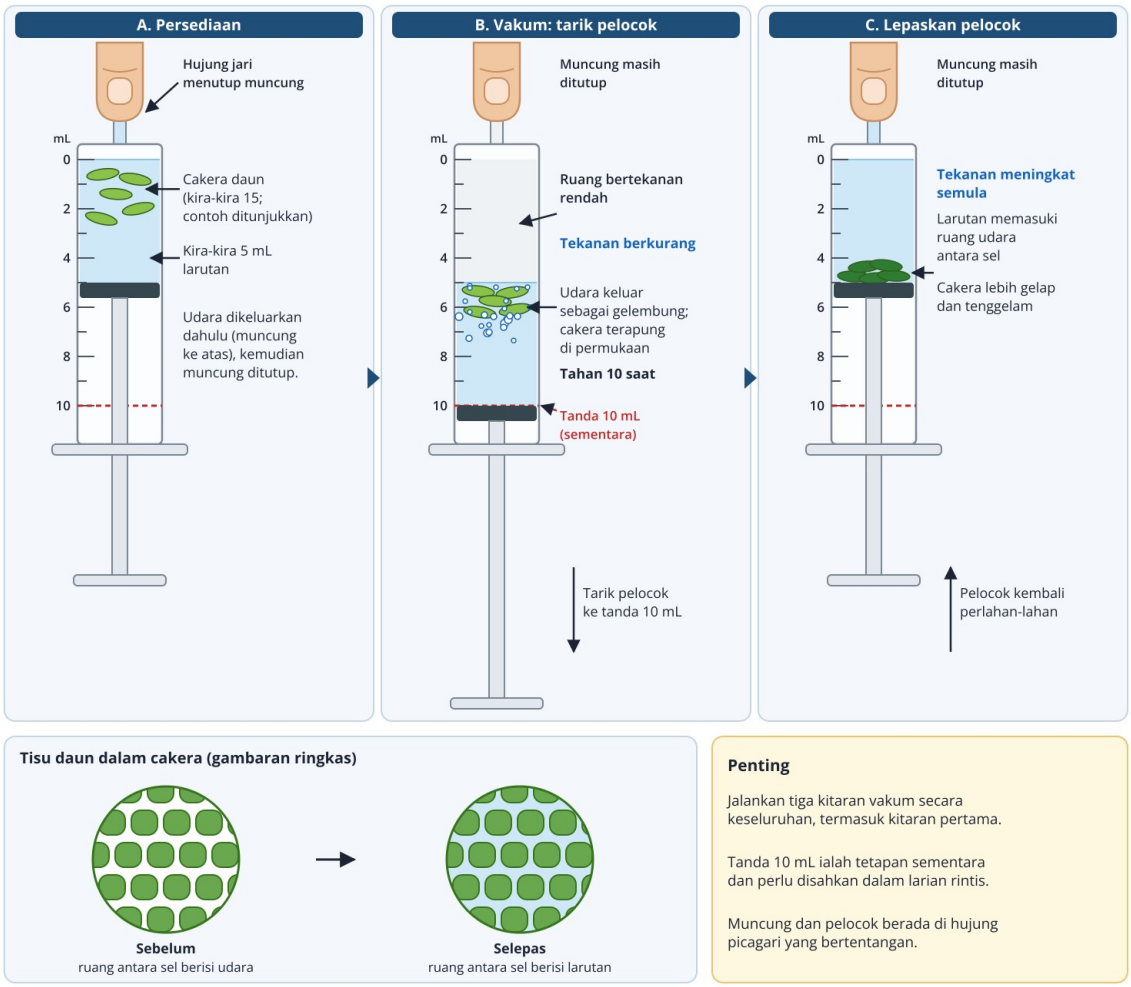
1. Pastikan daun kekal segar dan lembap sebelum ditebuk: simpan di tempat teduh dengan tangkai di dalam air, atau bungkus dengan tisu yang lembap.
2. Letakkan sehelai daun di atas papan pemotong atau beberapa lapis tisu. Tekan hujung straw tegak ke atas daun dan pusingkan sedikit sehingga cakera terpotong. Tebuk di antara urat daun; elakkan urat besar dan tepi daun.
3. Tebuk kira-kira 15 cakera bagi setiap cawan. Selepas beberapa cakera terkumpul di dalam straw, tolak keluar perlahan-lahan dengan batang lidi, tanpa menusuk atau mengoyakkan cakera, ke dalam bekas kecil berisi sedikit larutan daripada kepekatan yang akan digunakan bagi cawan itu.
4. Tebuk cakera sejurus sebelum penyusupan vakum supaya cakera tidak kering. Pindahkan cakera dengan berus cat lembut; jangan picit dengan jari.



Rajah 1: Cara menyediakan cakera daun yang seragam untuk eksperimen pengapungan.

C. Penyusupan vakum

Picagari digunakan untuk mewujudkan vakum. Menarik pelocok semasa muncung picagari ditutup mengurangkan tekanan, lalu udara keluar dari daun. Melepaskan pelocok mengembalikan tekanan, lalu larutan masuk ke dalam daun. Cakera yang dipenuhi larutan menjadi lebih tumpat dan tenggelam.

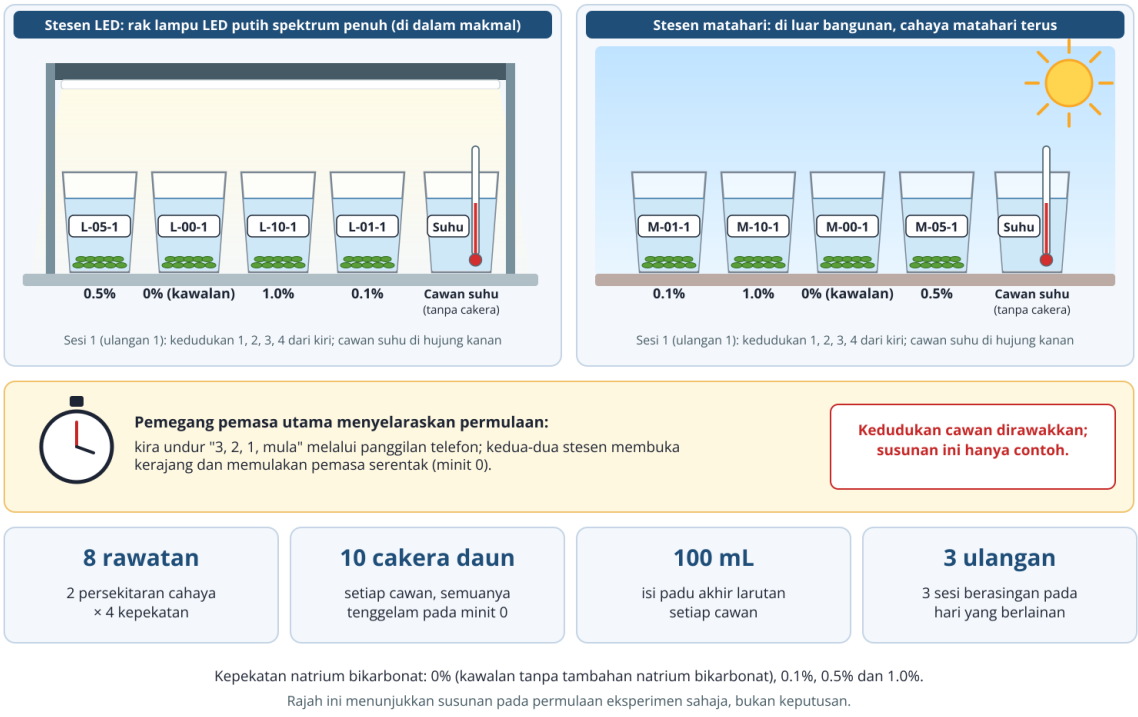


Rajah 2: Prinsip penyusupan vakum dengan picagari. Peringkat A hingga C (atas) menunjukkan bagaimana udara dalam cakera daun digantikan dengan larutan; gambaran tisu (bawah) menunjukkan perubahan dalam ruang udara antara sel. Jalankan tiga kitaran vakum secara keseluruhan. Tanda 10 mL ialah tetapan sementara untuk disahkan dalam larian rintis.

1. Sediakan picagari: labelkan picagari dengan kepekatan larutannya, dan tandakan garisan 10 mL dengan pen kekal. Inilah tanda yang sama bagi setiap kitaran vakum (tanda ini ialah tetapan sementara; larian rintis mesti mengesahkan bahawa pelocok boleh ditarik ke tanda ini dengan selamat dan konsisten tanpa tercabut).
2. Tarik keluar pelocok sepenuhnya. Masukkan kira-kira 15 cakera ke dalam badan picagari dengan berus. Pasang semula pelocok dan tolak perlahan hingga hampir ke muncung, tanpa menghimpit cakera.
3. Celup muncung picagari ke dalam larutan dan sedut kira-kira 5 mL. Pegang picagari menegak dengan muncung ke atas, ketuk perlahan supaya udara naik ke muncung, kemudian tolak pelocok perlahan untuk mengeluarkan udara itu. Ketuk picagari perlahan-lahan supaya cakera terampai di dalam larutan.
4. Kitaran vakum pertama: tutup muncung picagari dengan rapat menggunakan hujung jari. Tarik pelocok ke tanda 10 mL dan tahan selama 10 saat. Perhatikan gelembung kecil keluar dari tepi cakera; ini ialah udara yang keluar dari daun.
5. Lepaskan pelocok perlahan-lahan sambil jari masih menutup muncung picagari. Pada saat inilah larutan masuk ke dalam daun. Kemudian alihkan jari dan goyang picagari perlahan.

6. Jalankan sebanyak tiga kitaran vakum secara keseluruhan, termasuk kitaran pertama dalam langkah 4. Cakera yang berjaya diisi larutan kelihatan lebih gelap dan lut cahaya, lalu tenggelam.
7. Sukat 95 mL larutan daripada kepekatan yang sama dengan silinder penyukat 100 mL dan tuang ke dalam cawan berlabel dahulu. Kemudian pegang picagari dengan muncung ke atas, betul-betul di atas cawan itu, dan tarik keluar pelocok perlahan-lahan; larutan dan cakera akan jatuh ke dalam cawan. Cakera tidak boleh dikeluarkan melalui muncung kerana lubangnya terlalu kecil. Gunakan berus untuk memindahkan cakera yang tertinggal di dalam picagari. Jumlah isi padu dalam cawan menjadi kira-kira 100 mL (95 mL + 5 mL daripada picagari), sama bagi setiap cawan.
8. Rekodkan bilangan cakera yang ditebuk dan bilangan yang tenggelam sepenuhnya. Pilih 10 cakera secara rawak daripada yang tenggelam sepenuhnya, bukan yang kelihatan paling cantik. Keluarkan selebihnya dengan berus.
9. Jika 15 cakera bersesak atau tersangkut dalam picagari, bahagikan kepada dua kumpulan yang lebih kecil, dan gunakan cara yang sama untuk semua cawan.
10. Tutup setiap cawan dengan kerajang aluminium sebaik sahaja siap, dan simpan dalam gelap sehingga kelapan-lapan cawan siap. Pada awal setiap sesi, cabut kertas untuk menentukan susunan kepekatan yang disediakan, supaya kepekatan yang sama tidak sentiasa menunggu paling lama dalam gelap. Rekodkan masa setiap cawan siap, dan pastikan tempoh dalam gelap sesingkat yang boleh.
11. Selepas sesi, bilas picagari dengan air suling, biarkan kering, dan periksa pelocoknya sebelum digunakan semula.

D. Jalankan eksperimen



Rajah 3: Reka bentuk eksperimen faktorial yang membandingkan dua persekitaran cahaya dan empat kepekatan natrium bikarbonat. Susunan cawan dalam rajah hanyalah contoh; kedudukan cawan dirawakkan secara berasingan di setiap stesen dalam setiap sesi. Stesen matahari berada di

luar bangunan, bukan di sebalik tingkap. Cawan suhu (tanpa cakera) di hujung kanan setiap stesen digunakan untuk membaca suhu setiap 5 minit.

1. Setiap stesen mempunyai 4 kedudukan cawan bernombor 1 hingga 4. Sebelum setiap sesi, cabut kertas bernombor untuk menentukan kepekatan yang diletakkan di setiap kedudukan. Letakkan cawan suhu di hujung kanan setiap stesen. Bawa cawan M yang masih bertutup kerajang ke stesen matahari sejurus sebelum minit 0, supaya larutan tidak lama dipanaskan oleh matahari sebelum larian bermula.
2. Di stesen matahari, pastikan hari cerah, masa kira-kira pukul 9 hingga 11 pagi, dan bacaan cahaya di paras cawan melebihi 10,000 lux.
3. Ukur cahaya di setiap kedudukan cawan di kedua-dua stesen.
4. Buka kerajang semua cawan dan mulakan pemasa yang diselaraskan di kedua-dua stesen pada masa yang sama. Ini ialah minit 0. Cara menyelaraskan: pemegang pemasa utama membuat panggilan telefon ke stesen kedua dan mengira undur "3, 2, 1, mula"; kedua-dua stesen membuka kerajang dan memulakan pemasa pada perkataan "mula".
5. Kira bilangan cakera terapung dalam setiap cawan setiap minit, dari minit 0 hingga minit 30. Ini memberi 31 kiraan bagi setiap cawan.
6. Setiap 5 minit, ukur cahaya di setiap kedudukan dan baca suhu dalam cawan suhu di setiap stesen. Cawan suhu ialah cawan yang sama jenis berisi 100 mL air tanpa cakera, dengan termometer dibiarkan di dalamnya sepanjang larian. Cawan ini mewakili suhu larutan di stesen itu tanpa mengganggu cakera dalam cawan rawatan. Ukur juga suhu setiap cawan rawatan pada minit 0 dan selepas kiraan minit 30; celup termometer hingga separuh kedalaman sahaja dan jangan sentuh cakera.
7. Jangan alihkan cawan, jangan teduhkan cawan, dan jangan ganti cakera selepas larian bermula.

E. Peraturan merekod data

1. Cakera dikira terapung hanya jika menyentuh permukaan larutan.
2. Rekodkan kiraan sebenar setiap minit. Jika cakera tenggelam semula, kiraan berkurang pada minit itu.
3. Jika satu minit terlepas, tulis "TL" (terlepas). Jangan salin nilai minit sebelahnya.
4. Kira dari atas, oleh pengira yang sama sepanjang larian.
5. Tulis catatan bagi perkara luar biasa, contohnya cakera melekat pada dinding, awan menutup matahari, atau cawan teranjak.
6. Masa video dan minit pemerhatian direkodkan dalam lajur berasingan.

F. Kira ET50

ET50 ialah masa pertama kiraan mencapai 5 daripada 10 cakera. Jika kiraan tepat 5 pada satu minit, minit itulah ET50. Jika 5 dicapai antara dua bacaan berturut-turut, anggarkan secara linear.

Contoh: pada minit 8 ada 4 cakera terapung, dan pada minit 9 ada 6 cakera terapung. ET50 = 8 + (5 − 4) ÷ (6 − 4) = 8 + 1 ÷ 2 = 8 + 0.5 = 8.5 minit. Nilai ini ialah anggaran.

- Jika minit di antaranya terlepas (contohnya minit 8 = 4, minit 9 = TL, minit 10 = 7), tulis "antara 8 dan 10 minit" dan semak video.
- Jika 5 cakera tidak terapung dalam 30 minit, tulis "tidak dicapai dalam 30 minit". Ini ialah keputusan yang sah, bukan kegagalan.

- Jika kiraan kemudian turun di bawah 5, tulis catatan. Jika lima atau lebih cakera sudah terapung pada minit 0, rekodkan keadaan tersebut dan semak semula keberkesanan penyusupan vakum sebelum mentafsir ET50, kerana penyediaan cakera mungkin tidak berjaya.

Dalam keadaan eksperimen yang setanding, ET50 yang lebih pendek biasanya mencadangkan pengumpulan oksigen yang lebih cepat dan aktiviti fotosintesis bersih yang lebih tinggi. Walau bagaimanapun, ET50 ialah penunjuk tidak langsung dan tidak mengukur kadar fotosintesis atau kadar kitar Calvin secara langsung.

Status setiap larian

Status	Maksud
Keputusan sah	Penyediaan dan pemerhatian mengikut prosedur, termasuk apabila ET50 tidak dicapai dalam 30 minit
Kegagalan teknikal	Kesilapan penyediaan atau prosedur menjejaskan pengukuran, contohnya kurang daripada 10 cakera tenggelam, larutan tercemar, atau pemerhatian tidak dapat digunakan
Sesi terganggu	Sesi terpaksa dihentikan, contohnya hujan, cawan terganggu, atau kejadian keselamatan

Semua larian direkodkan bersama sebabnya, dan tiada data dibuang secara senyap. Bagi kegagalan teknikal atau sesi terganggu, ulang kelapan-lapan rawatan bersama, dengan daun dan larutan yang baharu. Jika cawan kawalan 0% terapung secepat cawan natrium bikarbonat, semak sama ada udara masih terperangkap atau penyediaan berbeza. Ini amaran, bukan kegagalan automatik.

Cara membentangkan keputusan

1. Tunjukkan ketiga-tiga nilai ET50 bagi setiap rawatan dalam jadual.
2. Jika ketiga-tiga ulangan mencapai ET50, laporkan purata.
3. Jika satu ulangan "tidak dicapai", laporkan median dan nyatakan satu tidak dicapai. "Tidak dicapai" dianggap lebih lama daripada 30 minit, bukan sama dengan 30. Contoh: 8 minit, 12 minit dan tidak dicapai memberi median = 12 minit.
4. Jika dua atau tiga ulangan "tidak dicapai", tulis "median tidak dicapai dalam 30 minit". Jika ET50 hanya dapat dinyatakan sebagai anggaran selang (contohnya antara 8 dan 10 minit), kekalkan anggaran selang itu dalam jadual dan jangan gantikan dengan satu nilai tepat. Jika ini menghalang pengiraan purata atau median yang tepat, laporkan nilai ulangan secara berasingan dan nyatakan bahawa ringkasan tepat tidak dapat ditentukan.

Persekitaran cahaya	0% (kawalan)	0.1%	0.5%	1.0%
LED	ET50 ulangan 1, 2, 3: … Ringkasan: …	ET50 ulangan 1, 2, 3: … Ringkasan: …	ET50 ulangan 1, 2, 3: … Ringkasan: …	ET50 ulangan 1, 2, 3: … Ringkasan: …
Matahari	ET50 ulangan 1, 2, 3: … Ringkasan: …	ET50 ulangan 1, 2, 3: … Ringkasan: …	ET50 ulangan 1, 2, 3: … Ringkasan: …	ET50 ulangan 1, 2, 3: … Ringkasan: …

Graf:

- Lengkung pengapungan bagi setiap ulangan: masa (0 hingga 30 minit) pada paksi mendatar dan bilangan cakera terapung (0 hingga 10) pada paksi menegak. Lengkung ini ialah bukti utama.
- Graf interaksi: ET50 melawan kepekatan natrium bikarbonat, satu garis bagi LED dan satu garis bagi matahari. Plot hanya ringkasan yang dapat dianggarkan, dan tandakan dengan jelas yang tidak dicapai. Jangan sambung garis merentasi nilai yang tiada. Bagi rawatan yang ET50 tidak dicapai, jangan plot nilai tersebut sebagai 30 minit. Nyatakan bahawa ET50 melebihi tempoh pemerhatian dan rujuk lengkung pengapungan asal untuk mentafsir keputusan.

Tafsiran: garis yang hampir selari mencadangkan kesan natrium bikarbonat yang serupa di bawah kedua-dua persekitaran cahaya. Garis yang tidak selari mencadangkan kemungkinan interaksi. Dengan tiga ulangan tanpa ujian statistik, gunakan perkataan "kelihatan" atau "mencadangkan", bukan "membuktikan".

Perbincangan: kelebihan dan kekurangan setiap persekitaran cahaya

Suhu tidak dikawal dalam amali ini supaya pelajar dapat membincangkan perkara berikut berdasarkan data cahaya dan suhu mereka sendiri. Oleh sebab suhu tidak dikawal, perbezaan ET50 antara stesen LED dan stesen matahari tidak boleh dikaitkan dengan persekitaran cahaya semata-mata. Perbezaan suhu mungkin turut mempengaruhi fotosintesis dan respirasi. Oleh itu, keputusan membandingkan dua persekitaran keseluruhan, bukan kesan keamatan cahaya secara terasing.

Persekitaran cahaya	Kelebihan	Kekurangan
Rak lampu LED	Cahaya stabil dan boleh diulang; tidak bergantung pada cuaca; mudah dijalankan di dalam makmal	Biasanya jauh lebih malap daripada cahaya matahari; spektrum berbeza daripada cahaya matahari; memerlukan peralatan
Cahaya matahari	Sangat terang dan percuma; spektrum semula jadi	Berubah mengikut awan dan masa; memanaskan larutan; sukar diulang dengan tepat pada hari lain

Soalan perbincangan: adakah perbezaan ET50 antara dua stesen disebabkan oleh keamatan cahaya, spektrum, suhu, atau gabungan ketiga-tiganya? Bagaimanakah reka bentuk eksperimen boleh diubah untuk mengasingkan satu faktor sahaja?

Masalah lazim dan penyelesaian

Masalah	Punca yang mungkin	Penyelesaian
Cakera tidak tenggelam	Udara masih terperangkap dalam daun	Pastikan pelocok ditarik ke tanda yang betul dan ditahan 10 saat. Jangan tambah sabun. Rekod sebagai kegagalan teknikal jika kurang daripada 10 tenggelam
Cakera tenggelam tetapi tidak terapung	Cahaya lemah atau karbon terlarut tidak	Semak bacaan cahaya dan kepekatan. Ini mungkin

Masalah	Punca yang mungkin	Penyelesaian
semula	mencukupi	keputusan sah bagi kawalan atau kepekatan rendah
Cakera melekat pada dinding cawan	Cakera tersentuh dinding semasa dituang	Goyang cawan perlahan sebelum mula dan tulis catatan
Awan menutup matahari semasa larian	Cuaca berubah	Teruskan, rekod bacaan cahaya dan masa, dan bincangkan kesannya

Larian rintis: kriteria kesediaan

Jalankan sekurang-kurangnya dua sesi rintis.

Penting:

1. Sekurang-kurangnya 90% penyediaan menghasilkan 10 cakera tenggelam daripada 15 (piawai yang dicadangkan, bukan nilai terbitan). Contohnya, dua sesi rintis menghasilkan 16 cawan; 90% × 16 = 14.4, jadi sekurang-kurangnya 15 daripada 16 cawan mesti memenuhi syarat ini.
2. ET50 dicapai dalam 30 minit pada 0.5% di bawah kedua-dua persekitaran cahaya. Ini ialah sasaran kesediaan amali, bukan nilai biologi yang mesti dicapai oleh semua jenis daun. Jika sasaran tidak dipenuhi, semak kaedah penyusupan vakum, kesesuaian daun dan keadaan eksperimen sebelum mengubah reka bentuk.
3. Satu sesi lengkap, dari menebuk cakera hingga kiraan terakhir, selesai dalam kira-kira 2 hingga 3 jam.
4. Bacaan cahaya, suhu dan kiraan direkodkan dengan lengkap.

Diingini: cawan kawalan 0% terapung lebih perlahan daripada cawan natrium bikarbonat, dan terdapat trend merentas kepekatan. Jika tidak, ini mungkin keputusan sebenar dan bukan kegagalan.

Jika dua sesi rintis memenuhi kriteria penting, keputusan dibawa kepada Dr Amin untuk semakan saintifik sebelum diserahkan kepada pelajar.

Helaian rekod sesi

Bahagian 1: Maklumat sesi

Perkara	Catatan
Tarikh dan ulangan (1, 2 atau 3)	
Kumpulan dan nama ahli mengikut peranan	
Masa mula sebenar	
Cuaca	
Jenis sayur, nama tempatan dan sumber	
Diameter straw atau penebuk (mm)	

Perkara	Catatan
Susunan penyediaan kepekatan, dan tempoh dalam gelap bagi cawan pertama dan terakhir (minit)	

Bahagian 2: Radas dan persekitaran (satu baris bagi setiap cawan)

Label cawan	Kedudukan	Cakera ditebuk	Cakera tenggelam	Cahaya minit 0 (lux)	Suhu minit 0 (°C)	Suhu minit 30 (°C)
L-00						
L-01						
L-05						
L-10						
M-00						
M-01						
M-05						
M-10						

Bahagian 2b: Bacaan setiap 5 minit. Cahaya diukur di keempat-empat kedudukan cawan di setiap stesen. Suhu dibaca dalam cawan suhu (tanpa cakera) di setiap stesen.

Minit	LED K1 (lux)	LED K2 (lux)	LED K3 (lux)	LED K4 (lux)	Suhu cawan suhu LED (°C)	Mata hari K1 (lux)	Mata hari K2 (lux)	Mata hari K3 (lux)	Mata hari K4 (lux)	Suhu cawan suhu matahari (°C)	Catatan
0											
5											
10											
15											
20											
25											
30											

K = kedudukan cawan (1 hingga 4).

Bahagian 3: Kiraan cakera terapung setiap minit

Minit	L-00	L-01	L-05	L-10	M-00	M-01	M-05	M-10
0								

Minit	L-00	L-01	L-05	L-10	M-00	M-01	M-05	M-10
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								
27								
28								
29								

Minit	L-00	L-01	L-05	L-10	M-00	M-01	M-05	M-10
30								
ET50								
Status								

Catatan bagi setiap cawan: perkara luar biasa, sebab kegagalan atau gangguan, dan masa video yang berkaitan.

Kad taklimat pelajar

1. Pakai peralatan pelindung diri.
2. Labelkan larutan, picagari dan bikar.
3. Tarik pelocok ke tanda yang sama, tahan 10 saat, tiga kali.
4. Rekodkan bilangan cakera yang ditebuk dan yang tenggelam.
5. Rawakkan kedudukan cawan.
6. Mulakan kelapan-lapan cawan serentak.
7. Kira setiap minit; jangan meneka.
8. Rekodkan kegagalan bersama sebabnya.

Panduan video pelajar

- Rakam larian sebenar, bukan lakonan semula, dengan pemasa kelihatan sepanjang masa dan label cawan boleh dibaca.
- Tunjukkan daun yang digunakan, penebukan cakera, tanda pada picagari, langkah melepaskan pelocok, dan kiraan cakera yang tenggelam secara dekat.
- Tunjukkan larutan dan picagari berlabel, kedudukan cawan yang dirawakkan, bacaan cahaya di setiap kedudukan, kedua-dua stesen, dan semua cawan pada minit 0.
- Tunjukkan cara ET50 dikira, dengan satu contoh pengiraan.
- Terangkan reka bentuk dua faktor secara ringkas, dan bincangkan kelebihan dan kekurangan setiap persekitaran cahaya.
- Sertakan larian yang gagal bersama sebabnya.
- Gunakan Bahasa Melayu dan sebut istilah bahasa Inggeris bagi setiap istilah penting pada kali pertama, contohnya "penyusupan vakum (vacuum infiltration)".

Glosari dwibahasa

Bahasa Melayu	English
Kitar Calvin	Calvin cycle
Tindak balas cahaya	Light reactions (light-dependent reactions)
Stroma	Stroma
Fotosintesis bersih	Net photosynthesis
Respirasi	Respiration
Ruang udara antara sel	Intercellular air space

Bahasa Melayu	English
Daya apung	Buoyancy
Penyusupan vakum	Vacuum infiltration
Cakera daun	Leaf disc
Natrium bikarbonat	Sodium bicarbonate
Karbon tak organik terlarut	Dissolved inorganic carbon
Tegangan permukaan	Surface tension
Penebuk gabus	Cork borer
Picagari	Syringe
Pelocok	Plunger
Muncung picagari	Syringe nozzle (tip)
Berus cat	Paintbrush
Persekitaran cahaya	Lighting environment
Diod pemancar cahaya (LED)	Light-emitting diode (LED)
Cawan suhu	Temperature reference cup (no discs)
Keamatan cahaya	Light intensity
Spektrum	Spectrum
Lux	Lux (illuminance)
Ketumpatan fluks foton fotosintesis (PPFD)	Photosynthetic photon flux density (PPFD)
Sensor kuantum	Quantum sensor
Kawalan	Control
Eksperimen faktorial	Factorial experiment
Rawatan	Treatment
Ulangan	Replicate
Ulangan bebas	Independent replicate
Susunan rawak	Random order (randomisation)
Pemboleh ubah pengeliru	Confounding variable
ET50	Estimated time for 50% of discs to float (ET50)
Interpolasi linear	Linear interpolation

Bahasa Melayu	English
Anggaran selang	Interval estimate
Purata	Mean
Median	Median
Interaksi	Interaction
Larian rintis	Pilot run

Lampiran: versi di rumah

Versi ini ialah protokol pengajaran alternatif untuk guru dan orang ramai. Ia tidak setara dengan protokol makmal, dan keputusannya disimpan berasingan daripada data makmal.

- Gantikan rak LED dengan lampu meja LED putih, dan bandingkan dengan cahaya matahari pada pukul 9 hingga 11 pagi pada hari cerah.
- Ukur cahaya dengan aplikasi meter cahaya telefon dan rekodkan dalam lux sahaja. Jangan tukar lux kepada unit PPFD. Rekodkan model lampu, jarak lampu ke cawan, dan suhu larutan.
- Penimbang dapur biasanya hanya membaca 1 g, jadi 0.3 g tidak dapat ditimbang. Sediakan larutan stok 1.0% dahulu, kemudian cairkan:
    a. Larutan stok 1.0%: larutkan 5 g soda penaik dalam air hingga 500 mL, kerana 5 ÷ 500 × 100 = 1.0%.
    b. 0.5%: campurkan 150 mL larutan stok dengan 150 mL air, kerana 150 ÷ 300 × 1.0% = 0.5%.
    c. 0.1%: campurkan 30 mL larutan stok dengan 270 mL air, kerana 30 ÷ 300 × 1.0% = 0.1%. Sukat 30 mL dengan picagari bertanda atau silinder penyukat.
    d. 1.0%: gunakan baki larutan stok, iaitu 500 − 150 − 30 = 320 mL.
    e. 0%: air daripada sumber yang sama, tanpa tambahan natrium bikarbonat.
- Daripada baki 320 mL larutan stok 1.0%, ambil 300 mL sebagai larutan kerja. Tambah 1 titis sabun pencuci pinggan kepada setiap larutan kerja 300 mL, termasuk kawalan 0%. Kacau perlahan-lahan tanpa menghasilkan buih, dan gunakan jenis sabun dan kaedah penitisan yang sama untuk semua rawatan.
- Picagari 10 mL tanpa jarum boleh dibeli di farmasi. Gunakan straw minuman yang tegar untuk menebuk cakera.
- Gunakan peraturan kiraan dan ET50 yang sama seperti protokol makmal.