الفصل الثالث

البناء الضوئي
Photosynthesis

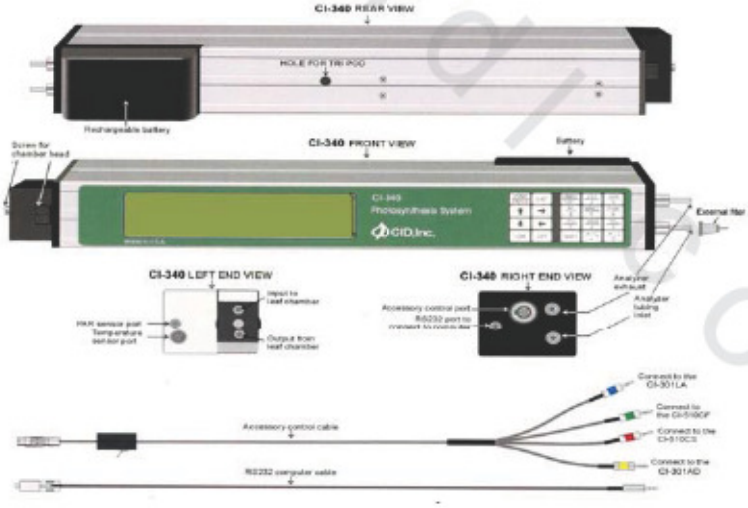
مقدمة

نعلم أن الكائنات ذاتية التغذية هي عبارة عن تلك الكائنات التي لها القدرة على تكوين غذائها بنفسها. تلك الكائنات تستخدم الطاقة في وجود ضوء الشمس أو الكيماويات لإنتاج الغذاء. في عملية البناء الضوئي تقوم النباتات باستخدام الطاقة الشمسية لتحويل الماء وثاني أكسيد الكربون إلى أكسجين ومركبات كربوهيدراتية عالية الطاقة.

وعملية البناء الضوئي كغيرها من العمليات الأخرى في النبات قد حظيت باهتمام العلماء وبذلك فقد توفرت عدة طرق للقياس سواء جزئياً، كقياس بعض المتغيرات في جهاز البناء الضوئي، أو كلياً كقياس معدل البناء الضوئي لكثير من المجموعات النباتية. عموماً هناك طرق عديدة لقياس معدل البناء الضوئي أغلبها يتم داخل المعمل وهي ماسنتناولها في هذا الفصل وطرق أخرى حقلية تستخدم خارج نطاق المعمل وهي تحتاج إلى أجهزة مناسبة للقياس المباشر. وهذه الأجهزة كثيرة ومتعددة يستخدم معظمها في النواحي البحثية التطبيقية وليست المعملية. ومنها الحديث جداً كما بالشكل رقم (٢٣ أ ، ب) ومنها الأقدم من ذلك ولكنه مازال يستخدم للآن. عموماً يمكن الاستعانة بهذه الأجهزة الحديثة من قِبل المهتمين بمجال بحوث فسيولوجيا النبات العملية والتي يستلزم لها عملية قياس معدل البناء الضوئي.

obeikandl.com

الشكل رقم (٢٣ ــ أ) يوضح جهاز حديث لقياس معدل البناء الضوئي
Photosynthesis apparatus



الشكل رقم (٢٣ ــ ب). يوضح الرسم التخطيطي لجهاز قياس معدل البناء الضوئي وكيفية تشغيله.

وقد تركت الفرصة للقائمين والمشرفين على دروس الطلاب العملية بالإستعانة بهذا الجهاز الحديث والمتوفر فعلاً بمعاملنا والقيام بشرح كيفية تشغيله واستخدامه في عملية قياس معدل البناء الضوئي وذلك بالاستعانة بالكُتيب المرفق معه والذي يتضمن شرحاً مفصلاً وبسيطاً لتركيبه وكيفية تشغيله من قِبل الفني المختص بذلك.

من جهة أخرى لا يمكن الاستغناء عن الطرق التقليدية المتعارف عليها والتي قد تكون مناسبة للطلاب ؛ نظراً لتوفر إمكانياتها من جهة وكذلك إعطائهم الفرصة لتفهم خطواتها بدقة من جهة أخرى.

التجربة رقم (١٠): إثبات حدوث تكوين النشا كناتج لعملية البـــناء الضـــوئي
Starch Production in Photosynthesis

تحدث عملية البناء الضوئي داخل إحدى عضيات الخلية تسمى البلاستيدات. تحتوي البلاستيدات على صبغة خضراء اللون تسمى الكلوروفيل والتي تقوم بامتصاص الطاقة من أشعة الشمس ، لذا فمعادلة البناء الضوئي تكون كما يلى :

$$6CO_2 + 12H_2O \xrightarrow[\text{chlorophyll}]{\text{light}} C_6H_{12}O_6 + 6H_2O + 6O_2$$

المركب $C_6H_{12}O_6$ عبارة عن جزيئات من الجلوكوز والتي تنتقل فيما بعد خارج البلاستيدات. مع ذلك فإن النبات لا يستطيع نقل جزيئات الجلوكوز خارج البلاستيدات بنفس سرعة تكوينها. ولحل هذه المشكلة يقوم النبات بتحويل جزيئات الجلوكوز الناتجة إلى جزيئات أكبر منها تسمى النشا.

جزيئات الجلوكوز عبارة عن سكريات أحادية ومن خلال عملية نزع الماء Dehydration تستطيع أن تتحول إلى جزيئات أكبر وهي السكريات العديدة. هذه السكريات العديدة (وهي النشا) تُختزن داخل البلاستيدات Plastides حتى يحين وقت خروجها إلى الخلية.

إن صبغة اليود (الأيودين) تعتبر صبغة متخصصة لتلوين حبيبات النشا إلى اللون الأسود (حقيقة هو لون أزرق غامق جداً).

طريقة العمل

اليوم الأول

الأدوات والمواد اللازمة (لكل مجموعة من الطلبة):

- نبات واحد (والذي قد وضع في الظلام لمدة ٢٤ ساعة).
- عدد ٤ مربعات بلاستيكية Plastic squares نظيفة أكبر قليلاً من ورقة النبات.
- ماسك ورقي (كلبسات)Paper clips
- ورقتين مقطوعتين أو شرائح الفيلم السالبة Film negative أصغر من ورقة النبات.
- مقص Scissors.
- شريط لصق.

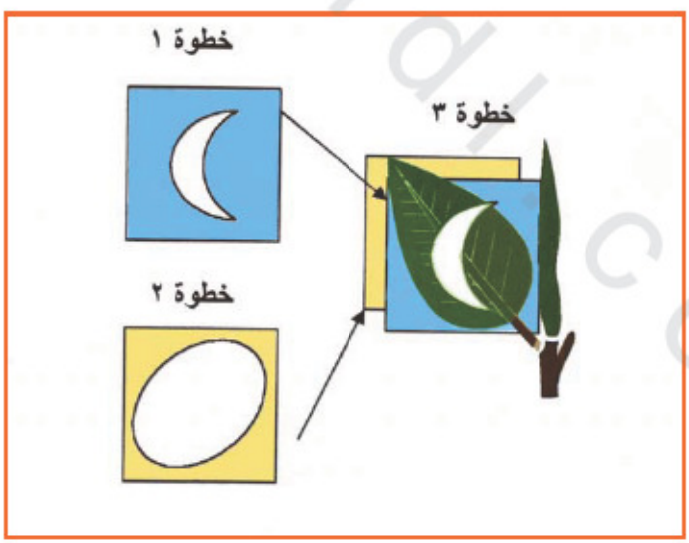
١- خذ ورقة واحدة من الأوراق المقطوعة ولصقها على أحد جوانب المربع البلاستيك. ثم خذ الورقة المقطوعة الثانية ولصقها على أحد جوانب المربع البلاستيكي الآخر.

obeikandl.com

٢- اعمل فتحة كبيرة على شكل ورقة النبات وذلك في المربعين البلاستيكيين الآخرين.

٣- خذ أحد المربعين البلاستيك المقطوع به شكل الورقة ومربع البلاستيك الآخر ذو الفتحة، ثم باستخدام ماسك (كلبس) ضع ورقة النبات بين كلا المربعين البلاستيكيين السابقين كالساندويتش. المربع والذي به الفتحة لابد وأن يكون بالجهة السفلى لورقة النبات والمربع البلاستيك المقطوع بدون فتحة يكون على الجهة العليا لورقة النبات. كرر هذه الخطوة على ورقة نبات أخرى مستخدماً مربعين بلاستيكيين آخرين، كما بالشكل رقم (٢٣ - ج).

٤- اقرأ خطوات العمل لليوم الثاني ثم اذكر توقعاتك عن كيفية شكل ورقة النبات التي ستصبح عليه وكذلك تفسيراتك لنهاية التجربة.



الشكل رقم (٢٣ ــ ج). يوضح خطوات عمل فتحات في المربعات البلاستيكية المحاطة بورقة النبات لإثبات حدوث تكوين النشا كناتج لعملية البناء الضوئي.

المشرف على التجربة سوف يعرض هذه الأوراق النباتية إلى الضوء المباشر لمدة تتراوح من ٢ ـ ٤ ساعات قبل ميعاد الدرس العملي التالي.

اليوم الثاني

الأدوات والمواد اللازمة :

- مسطح ساخن Hot plate .
- إيثانول Ethanol .
- كاسات زجاجية Beakers .
- ملاقط .
- فوط (مناشف) ورقية .
- محلول اليود Iodine solution .
- ورق قصدير Aluminium foil .

١- انزع المربعات البلاستيكية بعناية من على النبات.

٢- اقطع الورقة النباتية وافصلها عن النبات .

٣- امسك الورقة النباتية بالملقط ثم اتبع الخطوات الآتية :

أ) أسقطها في كأس زجاجية بها ماء مغلي لقتل الخلايا.

ب) ثم انقلها إلى كأس زجاجية بها إيثانول مغلي لمدة دقيقتين لإزالة غالبية جزيئات الكلوروفيل.

ج) انقلها إلى كأس زجاجية به إيثانول على درجة حرارة الغرفة لمدة دقيقة، لاحظ أن الورقة لابد وأن تصبح بيضاء.

obeikandl.com

٤- جفف ورقة النبات باستخدام المناشف الورقية.

٥- ضع الورقة النباتية على قطعة مربعة من ورق القصدير ثم أضف إليها محلول اليود لمدة دقيقة أو أقل، ارفع الورقة عندما تشاهد الصورة أو الشكل عليها ثم ضع كل من الورقة النباتية والقصدير في ماء لعملية الغسيل، يمكن تجفيف الورقة النباتية وتثبيتها في الدفتر العملي.

٦- ناقش النتائج جيداً مع كتابة معادلة البناء الضوئي واذكر أهمية العوامل المؤثرة لحدوث النتائج الصحيحة.

obeikandl.com

obeikandl.com

مقدمة في فسيولوجيا النبات العملية

تقرير التجربة العملية

عنوان التجربة: .....

اسم الطالب: .....

الرقم الجامعي: .....

تاريخ بدء التجربة: .....

تاريخ نهاية التجربة: .....

تاريخ تقديم التقرير: .....

١- الملخص:

.....

.....

.....

.....

٢- الهدف من التجربة:

.....

.....

.....

.....

obeikandl.com

٣– المواد وطريقة العمل (مختصرة من التجربة):

.....

.....

.....

٤– النتائج:

.....

.....

.....

٥– المناقشة:

.....

.....

.....

٦– إجابة الأسئلة:

.....

.....

.....

٧– المراجع :

.....

.....

.....

٨– استفسارات عن النقاط غير الواضحة:

.....

.....

.....

obeikandl.com

التجربة رقم (١١): استخلاص الكلوروفيل Chlorophyll بطريقتي الطحن والغمر باستخدام المذيب، وتقديره كمياً

مقدمـــة

يعتبر اليخضور أو الكلوروفيل عاملاً أساسياً في عملية البناء الضوئي، فهو بامتصاصه للطاقة الضوئية يدفع الخلايا الحية إلى بناء المواد الكربوهيدراتية. ويوجد الكلوروفيل في الخلية محمولاً على أجسام البلاستيدات الخضراء Chloroplasts، ويمكن استخلاصه من الأوراق النباتية الخضراء بأحد المذيبات العضوية كالإثير أو الأسيتون، إذ إنه لا يذوب في الماء. وم ن الممكن أن يستخلص الكلوروفيل من الأوراق النباتية بغليها في الكحول الإيثيلي، إلا أن هذه الطريقة غير مرغوب فيها وذلك لحدوث تفاعل بين جزيئات الكلوروفيل والكحول يؤدي إلى تكون الكلوروفيلليد الإيثيلي الذي يختلف عن الكلوروفيل الحقيقي. الكلوروفيل المستخلص من الأوراق يكون مرتبطاً مع البروتين، وهو لا يؤدي وظيفته البنائية إلا وهو على هذه الصورة.

والكلوروفيلات، يوجد منها (Chlorophyll (a) و (Chlorophyll (b) ، وفي معظم النباتات الراقيـــة والطحالب الخضراء، يوجد كلورفيل a و b بنســبة ٢ : ١ أو ٣ : ١ .

وهناك كلوروفيل (C)، يوجد في الطحالب البنية والدياتومات والداينوفلاجيلات، وذلك بالإضافة إلى الكلوروفيل (D). عموماً الكلوروفيل (a) يوجد في بعض الكائنات الدقيقة البدائية النواة والتي تصنف حديثاً بالبكتيريا الزرقاء وكانت سابقاً تعرف بالطحالب الخضراء المزرقة. وهناك كلوروفيل بكتيري (a) يوجد في جميع أنواع البكتيريا.

والكلوروفيل ذو تركيب بورفوريني Porphyrin يتكون من ٤ حلقات بيرول Tetrapyrrole متحدة مع ذرة مغنسيوم Mg في المركز وتتصل بهذه الحلقات البيرولية عدة مجاميع أكبرها مجموعة فيتول Phytol المكونة من ٢٠ ذرة كربون.

الرمز الجزيئي للكلوروفيل (a) هو $C_{55}\ H_{72}\ O_5\ N_4\ Mg$

الرمز الجزيئي للكلوروفيل (b) هو $C_{55}\ H_{70}\ O_6\ N_4\ Mg$

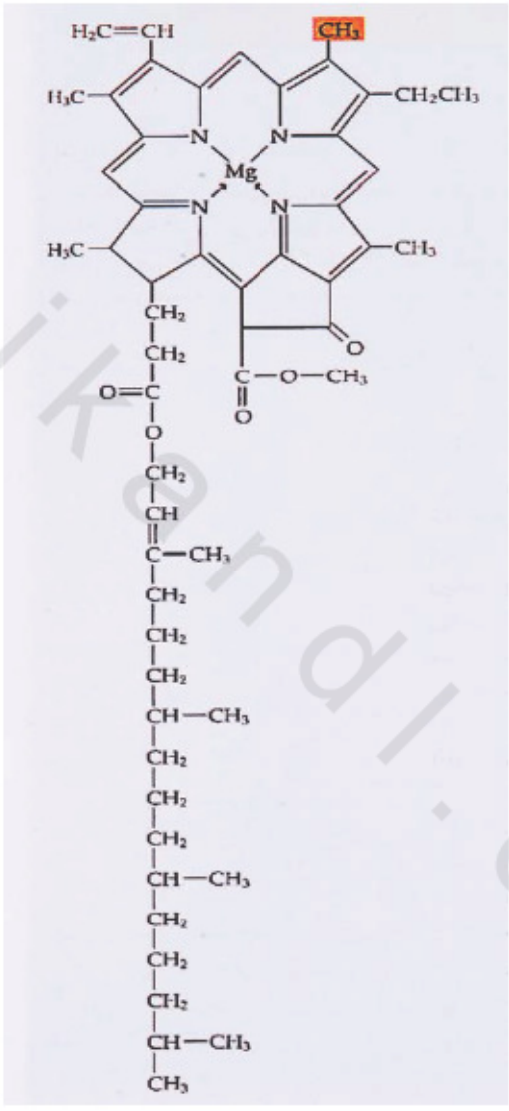
التركيب الجزيئي للكلوروفيل (a) هو نفسه تقريباً التركيب الجزيئي للكلوروفيل (b) ماعدا المجموعة الميثيلية ($-\ CH_3$) تستبدل بمجموعة ألدهيدية، (انظر الشكل رقم ٢٤).

صبغتا الكلوروفيل a و b تمتصان بشدة في الأشعة البنفسجية والزرقاء وفي الأشعة البرتقالية والحمراء ولا تمتصان الأشعة الخضراء إلا بكفاءة منخفضة نسبياً بل تقوم بانعكاس Reflect أو إنفاذ Transmit هذه الأشعة الخضراء مما يعطيها اللون الأخضر المميز، (انظر الشكل رقم ٢٥) ومن الممكن قياس الامتصاص النسبي Relative absorbance للأشعة المختلفة الموجات بواسطة صبغات نقية مستخدمين جهاز قياس الطيف الضوئيSpectrophotometer ومنحنى هذا الامتصاص كعمل لطول الموجة يسمى طيف الامتصاص Absorption spectrum.

ويوجد هناك نوع آخر من الصبغات يسمى الكاروتينويدات Carotenoids وتشتمل أساساً على نوعين من الصبغات هما :

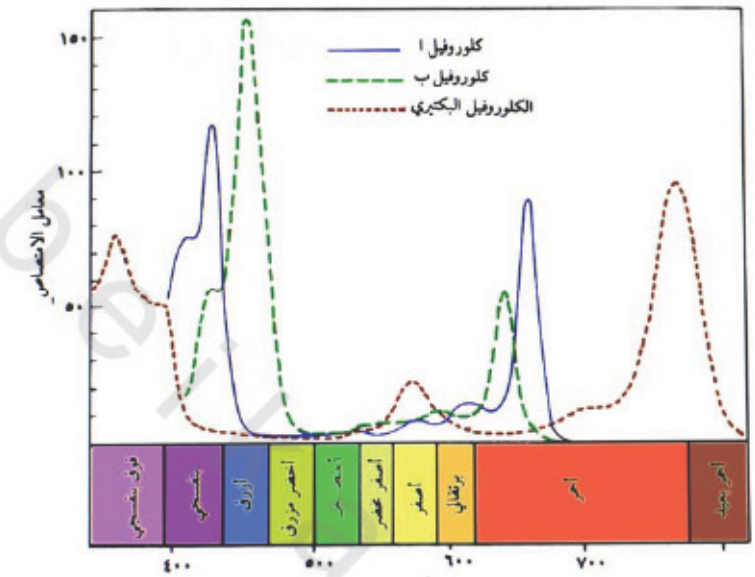
١- الكاروتينات Carotenes ومثلها بيتا كاروتين β- Carotene .

٢- الزانثوفيلات Xanthophylls ومثلها ليوتين Lutein.



الشكل رقم (٢٤). يوضح التركيب الجزيئي للكلوروفيل (a) أما الكلوروفيل (b) فهو نفسه ماعدا استبدال المجموعة الميثيلية (CH_3 -) بمجموعة ألدهيدية

obeikandl.com



الشكل رقم (٢٥). طيف الامتصاص لصبغتي كلوروفيل أ ، ب والكلوروفيل البكتيري في مستخلص الايثر (عن كليتون Clayton ١٩٦٥م بتصرف).

هذه الصبغات تمتص في مناطق مختلفة من طاقة الطيف الضوئي وبذلك تساهم في عملية البناء الضوئي بدرجات متفاوتة فلذلك فهي تعتبر صبغات مساعدة Accessory pigments. وتختلف نسبة الأصباغ المكونة للكلوروفيل في المجاميع النباتية المختلفة، ففي الأوراق النباتية الخضراء يبلغ متوسط هذه النسب إلى وزن الورقة الرطب ٠,٢ ٪ كلوروفيل a، 0.075٪ كلوروفيل b، 0.017 ٪ كاروتين ، ٠,٠٣ ٪ زانثوفيل. في الطحالب البنية لا يوجد كلوروفيل b بينما يكون كلوروفيل a بنسبة ٩٧ ٪ من المادة الخضراء. أما لونها البني فيعزى لوجود صبغ كاروتيني ثالث ـ بالإضافة إلى الكاروتين والزانثوفيل ـ هو الفيوكوزانثين Fucoxanthin. وفي الطحالب الحمراء يوجد إلى جانب الأصباغ الخضراء والصفراء صبغ أحمر هو الفيكوإريثرين Phycoerythrin.

معظم النباتات إذا نمت بعيداً عن الضوء تكون خالية من الكلوروفيل ولذلك تبدو البادرات التي تنمو في الظلام بيضاء أو صفراء (لوجود بعض الأصباغ الكاروتينية)، وحين تعرض هذه البادرات للضوء فإنها سرعان ما تكتسب اللون الأخضر. وتفسير ذلك أن البادرات النامية في الظلام تحتوي على كميات ضئيلة من مادة وثيقة الاتصال بالكلوروفيل ـ ويطلق عليها اسم الكلوروفيل الأولي Protochlorophyll تتحول إلى الكلوروفيل بمجرد تعرض البادرات للشمس، ويضطرد بعد ذلك تكون هذه المادة الأولية وتحويلها إلى الكلوروفيل. ومعنى ذلك أن الكلوروفيل يتكون على مرحلتين، الأولى لا تستلزم وجود الضوء ولكن الثانية تتطلب وجوده بصفته شرطاً أساسياً.

ويتأثر تكون الكلوروفيل بعوامل أخرى غير الضوء، فغياب عنصر الماغنسيوم ـ الذي يدخل في تركيب جزيئه من الوسط الذي يعيش فيه النبات ـ يحول دون تكون المادة الخضراء، وعلى ذلك تظهر الأوراق شاحبة اللون، وتعرف تلك الظاهرة بالشحوب اليخضوري Chlorosis وذلك تميزا له عن الشحوب الناتج عن غياب الضوء والمعروف بالشحوب الظلامي Etiolation. وكذلك يؤدي غياب عنصر النتروجين أو الحديد أو المنجنيز إلى شحوب الأوراق، ولو أن الأعراض تختلف في كل حالة عنها في الأخرى. والدليل على أهمية هذه العناصر في تكوين الكلوروفيل هو أن إضافة العنصر الناقص إلى مزرعة النبات تؤدي إلى عودة اللون الأخضر في الأوراق.

ويلائم تكون الكلوروفيل مدى ضيق نسبياً من درجات الحرارة، فالبادرات التي نمت لفترة في الظلام ثم عرضت للضوء يتكون فيها الكلوروفيل سريعاً بين درجتي حرارة ١٨ ° – ٣٠ °م .

تبدأ عملية تقدير طيف الامتصاص لصبغات الكلوروفيل أو تقديرها كمياً باستخلاص الصبغات من الأنسجة النباتية، وقد وجد أن الأسيتون من أفضل المذيبات كما وأنه أقل خطورة من بعض المذيبات الأخرى مثل الإثير. والفكرة في عملية الاستخلاص أنها تتطلب طحن النسيج النباتي في الأسيتون ثم فصل لب النسيج عن مستخلص الصبغة بواسطة الترشيح أو الطرد المركزي Centrifugation ثم إعادة استخلاص اللب مرة أخرى أو أكثر من مرة، وهذا يستلزم جهداً ووقتاً وقد يؤدي إلى فقد جزء من الصبغات بتكرار عمليات الاستخلاص، هذا بالإضافة إلى احتياجها لكميات كبيرة نسبياً من المذيب مما يؤدي إلى تخفيف تركيز الصبغة المستخلصة تخفيفاً شديداً قد يجعل تقدير كمياتها عملية صعبة خاصة إذا كان تركيز الصبغة بالنسيج النباتي منخفضاً أو كانت كمية النسيج النباتي المراد استخلاص الصبغة منها محدودة. يستخدم كذلك المذيب العضوي ثنائي ميثيل الفورماميد N,N-dimethylformamide (DMF) ذو التركيب المشابه للأسيتون، في استخلاص الكلوروفيل من الطحالب ومن أوراق النباتات الراقية وذلك من الأنسجة الكاملة بمجرد غمرها ونقعها في ذلك المذيب دون اللجوء لعملية الطحن المتكررة.

أولاً: استخلاص الكلوروفيل بطريقة الطحن

الأدوات والمواد اللازمة

١- أوراق نبات خضراء طازجة (مثل أوراق السبانخ).

٢- أسيتون ٨٠ ٪ أو ثنائي ميثيل الفورماميد N,N-dimethylformamide (DMF) .

٣- قمع بوخنر Buchner"s Funnel .

٤- أوراق ترشيح Whatman No.1 .

٥- هاون خزفي ويده Mortar &Pestle (ممكن استخدام خلاط Blender).

٦- جهاز قياس الطيف الضوئي Spectrophotometer مع أنابيبه المضلعة أو خلاياه Cuvettes .

٧- دوارق معيارية (١٠٠مل).

٨- ميزان حساس أو رقمي Deigital balance.

٩- مضخة تفريغ هواء Air vacuum إن لم تتوفر وسيلة الشفط في المعمل.

طريقة العمل

١- أوزن ١٠ جرام من أوراق النبات الأخضر.

٢- قطع هذه الأوراق إلى قطع صغيرة ثم ضعها في الهاون.

٣- أضف إليها (٤٠مل) من أحد المذيبات، إما أسيتون ٨٠ ٪ أو ثنائي ميثيل الفورماميد، (تضاف الكمية على مراحل).

٤- اطحن النسيج تماماً مع مراعاة عدم خروجه من الهاون.

٥- انقل المحلول الأخضر الناتج باحتراس إلى قمع بوخنر به أوراق ترشيح واتمان رقم ١ ، بحيث يكون القمع موضوع على دورق مخروطي ذي ذراع جانبي متصل بصنبور شفط الهواء المجهز بالمعمل أو مضخة تفريغ الهواء.

٦- قم بعملية الترشيح بحرص، واجمع المحلول الراشح في دورق مخروطي.

٧- أعد طحن لب النسيج الموجود بالهاون مستخدماً (٣٠مل) أخرى من محلول الأسيتون ٨٠ ٪ (أو مركب ثنائي ميثيل الفورماميد)، لمدة من ٣- ٥ دقائق.

٨- انقل هذا المستخلص للترشيح كما تم في الخطوات (٥ ، ٦) ثم اجمع المحلول الراشح في نفس الدورق المحتوي على المحلول الراشح السابق.

٩- إذا كان اللب المتبقي بالهاون محتوياً على الكلوروفيل، فأعد استخلاصه بكمية أخرى (٢٠مل) من الأسيتون (أو مركب ثنائي ميثيل الفورماميد).

١٠- رشح ثم اجمع الراشح في نفس الدورق السابق.

١١- اغسل الهاون ويده (أو الخلاط إذا كان هو المستخدم). وكذلك اغسل جوانب قمع بخنر مستخدماً (١٠مل) من الأسيتون (أو مركب ثنائي ميثيل الفورماميد) وذلك للتأكد من استخلاص كل الكلوروفيل كمياً والحصول عليه.

١٢- انقل المحلول المستخلص المحتوي على الكلوروفيل إلى الدورق المعياري (حجم ١٠٠ مل) وأكمل الحجم النهائي للمستخلص إلى ١٠٠مل مستخدماً نفس المذيب الذي استعملته سواء أكان أسيتون ٨٠ ٪ أو ثنائي ميثيل الفورماميد.

ثانياً : استخلاص الكلوروفيل بطريقة الغمر

الأدوات والمواد اللازمة

١- أوراق نباتية خضراء طازجة (ولتكن أوراق نبات السبانخ).

٢- أسيتون ٨٠ ٪ أو ثنائي ميثيل الفورماميد (DMF) N,N-dimethylformamide .

٣- ميزان حساس.

٤- أنابيب اختبار زجاجية ذات أغطية لإحكام الغلق.

٥- جهاز قياس الطيف الضوئي (وخلاياه).

طريقة العمل

١- زن ١ جم من النسيج الورقي للنبات على أن يسجل الوزن بدقة.

٢- ضع العينة الورقية في أنبوبة ثم أضف ١٠ مل من أي من المذيبين الأسيتون ٨٠٪ أو ثنائي ميثيل الفورماميد.

٣- احكم غلق الأنابيب بالغطاء حتى تمنع فقدان المذيب بالتطاير.

٤- اترك النسيج منقوعاً ومغموراً في المذيب (الأسيتون ٨٠٪ أو ثنائي ميثيل الفورماميد) لمدة ١٥ دقيقة مع الهز (الرج) اليدوي البسيط مرة كل ٥ دقائق.

٥- انقل المحلول المستخلص المحتوي على الكلوروفيل فقط إلى أنبوبة اختبار جديدة.

ثالثاً: التقدير الكمي للكلوروفيل a ، b والكلوروفيل الكلي

مقدمة

يمتص الحامل الصبغي في الكلوروفيلات جزءاً من الطاقة الضوئية في الجزء المرئي من الطيف الضوئي وذلك بكميات متفاوتة ما بين البنفسجي والأحمر، وفي الغالب تقاس هذه الكمية بمقدار ما يمتص من الطاقة عند أطوال معينة من موجات الضوء، وقد عرف ذلك بقياس مقدار ما يمتص من الضوء بواسطة الصبغة النقية (بعد استخلاصها) عند أطوال موجات ضوئية مختلفة. وهذا هو طيف الامتصاص Absorption spectrum من هنا تبين أن لكل كلوروفيل طيف امتصاص معين كما أن غالبية الكلوروفيلات تمتص أكبر كمية من الطاقة الضوئية في منطقتين من الطيف المرئي وهما الأزرق البنفسجي و الأحمر، بينما لا تمتص هذه الكلوروفيلات في منطقة الطيف الأخضر، ولذا فإن الكلوروفيلات تتميز بوجود قمتي امتصاص، بينما غالبية الضوء في المنطقة الخضراء من الطيف المرئي تنعكس أو تنفذ من الصبغة، ولذا فإن النباتات التي تسود بها صبغات الكلوروفيل تبدو للعين خضراء ومن المعتاد قياس الامتصاص النسبي عند أطوال موجات مختلفة من الضوء المرئي بواسطة جهاز قياس الطيف الضوئي ورسم ذلك بيانياً مع طول الموجة ليتكون لنا رسم لطيف الامتصاص للصبغة النقية من الكلوروفيلات، كما بالشكل رقم (٢٥) الذي يوضح طيف الامتصاص لكل من كلوروفيلي a، b والكلوروفيل البكتيري. عموماً فإن قمة الامتصاص لأية صبغة نباتية تعتمد على نوع المذيب المستخدم لاستخلاص الصبغة فمثلاً هناك قمة امتصاص لكلورفيل a عند طول موجة ٦٦٠ نانومتر عندما يذاب في

ثنائي ايثيل الإثير، وعندما يذاب في أسيتون ٨٠ ٪ فتكون طول الموجة ٦٦٣ نانومتر، ولكن إذا كان المذيب المستعمل هو ثنائي ميثيل الفورماميد فإن طول الموجة يكون ٦٦٤,٥ نانومتر، أما في الوسط المائي فتظهر تلك القمة عند طول موجي قدره ٦٨٣ نانومتر.

وتشير بعض الدراسات (براون وآخرين) Brown *et al.*1973، إلى أن مختلف البروتينات التي ترتبط مع كلوروفيل a لتكون معقداً صبغياً بروتينياً تؤثر على طيف الامتصاص جزئياً إلى أطوال الموجات القصيرة (أي إلى جهة المنطقة الزرقاء من الطيف).

ويقترن طيف الامتصاص بنوع آخر من القياس يسهل الوصول إلى معرفة الصبغة المسؤولة عن العملية الفسيولوجية يسمى قياس طيف الأداء Action spectrum أي التأثير النسبي Relative effectiveness لتلك العملية نتيجة لتغيير الإضاءة، وفي حالة النبات يتم قياس النشاط النسبي لعملية البناء الضوئي بعد تعريضه إلى إضاءة عند أطوال موجات مختلفة من الضوء المرئي. ونظرياً لو كان الكلوروفيل هو الصبغة الوحيدة المسئولة عن عملية البناء الضوئي لتطابق طيف الامتصاص للصبغة مع طيف الأداء لعملية البناء الضوئي، وهذا ما أثبت في دراسة على نبات البنجر (Chen, 1952).

طريقة القياس والتقدير الكمي للكلوروفيلات

١- إملأ ثلثي (٢/٣) الخلايا الزجاجية الخاصة بالجهاز بالمستخلص الكلوروفيلي.

٢- سجل قراءات الكثافة البصرية Optical Density (O.D) للمستخلص المذاب في الأسيتون ٨٠ ٪ (مثلاً) باستخدام جهاز قياس الطيف الضوئي Spectrophotometer.

٣- تأكد أن يكون طول الموجات الضوئية ٦٤٥ ، ٦٥٢ ، ٦٦٣ نانوميتر (nm).

٤- استخدم البلانك الصحيح تبعاً للمذيب المستعمل في الاستخلاص، طبعاً البلانك هو أسيتون ٨٠ ٪.

٥- لاحظ أن وحدات الامتصاص Absorbance هي نفسها وحدات الكثافة البصرية (O.D) وهذه تعتبر وحدات لوغاريتمية وتقرأ على القياس من صفر / ٢ ، والقراءة تكون أكثر دقة إذا ما كانت في المجال من صفر إلى ١.

٦- إذا كان المستخلص مركزاً فيجب تخفيفه بالمذيب نفسه بحيث تصبح القراءات في المجال من صفر – ١ (ملحق رقم ٦ الذي يعبر عن القياسات الضوئية).

٧- سجل قراءات الامتصاص في الجدول المرفق.

٨- احسب الامتصاص /جم/ مل وعبر عن تلك النتائج في جدول مناسب أو رسم بياني.

٩- احسب من القراءات السابقة كميات الكلوروفيل a والكلوروفيل b والكلوروفيل الكلي الموجودة بالنسيج النباتي المستعمل معبراً عنها على أساس ملليجرام كلوروفيل لكل / جرام من نسيج الورقة المستخلص.

١٠- استخدم المعادلات التالية :

$$\text{mg Chlorophyll a / g tissue} = 12.7\,(O.D_{663}) - 2.69\,(O.D_{645}) \times \frac{V}{1000 \times W}$$

$$\text{mg Chlorophyll b / g tissue} = 22.9\,(O.D_{645}) - 4.68\,(O.D_{663}) \times \frac{V}{1000 \times W}$$

$$\text{mg total Chlorophyll / g tissue} = 20.2\,(O.D_{645}) + 8.02\,(O.D_{663}) \times \frac{V}{1000 \times W}$$

$$\text{or} \quad = \frac{(O.D.652)\times 1000}{34.5} \times \frac{V}{1000\times W}$$

حيث إن :

O.D = الكثافة البصرية لمستخلص الكلوروفيل عند طول الموجة الموضحة بجانب كل منها.

V = الحجم النهائي لمستخلص الكلوروفيل في الأسيتون ٨٠ ٪.

W = الوزن الطازج بالجرامات للنسيج النباتي المستخدم في عملية الاستخلاص.

الأرقام : هي عبارة عن معاملات الامتصاص Absorption coefficients .

الكثافة البصرية O.D. (الامتصاص) لمستخلص الكلوروفيل بالأسيتون عند أطوال موجات معينة

مجموعات الطلاب	الكثافة البصرية O.D. (الامتصاص)					
	٦٤٥ نانوميتر		٦٥٢ نانوميتر		٦٦٣ نانوميتر	
	بلانك	مستخلص	بلانك	مستخلص	بلانك	مستخلص
١						
٢						
٣						
٤						
٥						
المتوسط						

openkandil.com

١- دون جميع القراءات في صورة جداول ورسوم بيانية بقدر الإمكان.

٢- لماذا تؤخذ قراءات الكثافة البصرية على طول الموجات ٦٤٥ ، ٦٦٣ ، ٦٥٢ نانومتر ؟

٣- ما هو الفرق بين طيف الامتصاص Absorption spectrum وطيف الأداء Action spectrum .اذكر علاقتهما بتقييم وفهم الاستجابات المتأثرة بالضوء في النباتات.

٤- اذكر الفرق في التركيب الجزيئي لكل من كلوروفيل a ، وكلورفيل b.

٥- اذكر ما تعرفه هن الصبغات المساعدة Accessory pigments .

obeikandl.com

obeikandl.com

مقدمة في فسيولوجيا النبات العملية
تقرير التجربة العملية

عنوان التجربة: .....

اسم الطالب: .....

الرقم الجامعي: .....

تاريخ بدء التجربة: .....

تاريخ نهاية التجربة: .....

تاريخ تقديم التقرير: .....

١– الملخص:

.....

.....

.....

.....

٢– الهدف من التجربة:

.....

.....

.....

.....

obeikandl.com

٣– المواد وطريقة العمل (مختصرة من التجربة):

.....

.....

.....

٤– النتائج:

.....

.....

.....

٥– المناقشة:

.....

.....

.....

٦– إجابة الأسئلة:

.....

.....

.....

٧– المراجع :

.....

.....

.....

٨– استفسارات عن النقاط غير الواضحة:

.....

.....

.....

obeikandl.com

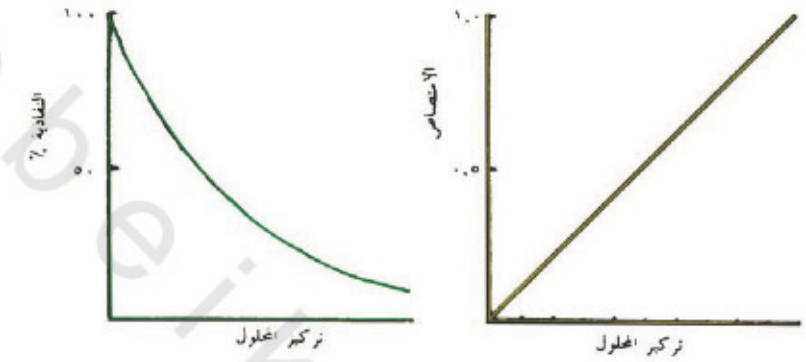
التجربة رقم (١٢): قياس طيف الامتصاص للصبغات باستخدام جهاز الطيف الضوئي

Measurement of Absorption spectrum for Pigments by Spectrophotometer

مقدمـــة

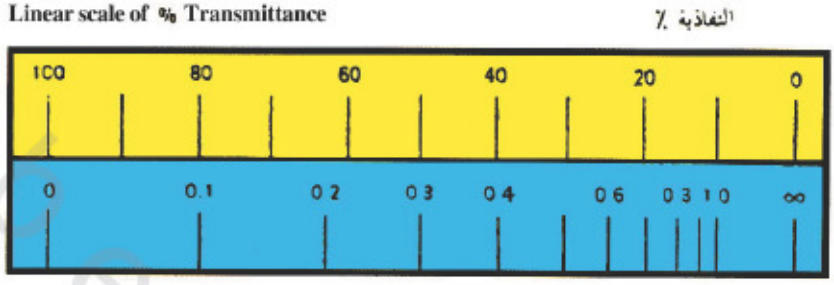
تحتاج العديد من التجارب الفسيولوجية والكيموحيوية إلى قياس كمية مركب ما أو مجموعة من المركبات التي توجد معاً في محلول واحد وتعتبر طرق التقدير اللوني Colourimetry من أكثر الطرق المستخدمة في عملية التقدير. وهي تعتمد على خاصية امتصاص المحلول الملون لبعض أطوال موجات الضوء أكثر من غيرها. وتتميز هذه الطريقة بأنها لا تتطلب فصل المركب المراد تقديره إذا ما كان مخلوطاً مع مركبات أخرى في المحلول نفسه. وتعتمد الفكرة في القياس على أن كثافة اللون يجب أن تتناسب طردياً مع تركيز المادة المراد قياسها لونياً وبذلك تتناسب مع كمية الضوء الممتص بواسطتها. ويمكن تمثيل العلاقة بين الامتصاص Absorbanc (A) وبين تركيز المحلول Concentration بيانياً فتحصل على خط مستقيم يمر بنقطة الأصل، بينما إذا رسمت العلاقة بين النسبة المئوية للنفاذية Transmittance (T) ٪ وتركيز المحلول فإننا نحصل على منحنى ليس بخط مستقيم ، (انظر الشكل رقم ٢٦ أ ، ب).

في هذه الحالة لابد من تثبيت طول المسافة التي يمر بها الضوء (وهي عرض الخلية أو الأنبوبة المحتوية على المحلول). ويلاحظ أن أغلب أجهزة قياس الطيف الضوئي Spectrophotometer تحتوي على تدريجين أحدهما تدريج عادي يمثل النفاذية٪ (T) والآخر تدريج لوغاريتمي Extinction يمثل الامتصاص (A) (الملحق رقم ٦) وتستخدم العلاقة بين قراءات التدريج اللوغاريتمي والتركيز في رسم المنحنى القياسي



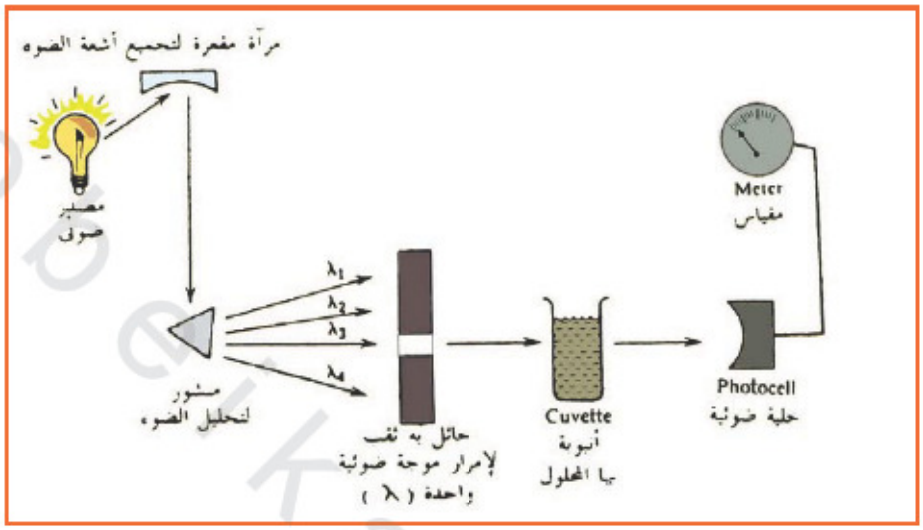
الشكل رقم (٢٦– أ). العلاقة بين تركيز المحلول وامتصاصه للضوء.

لمادة ما كما هو موضح في المنحنى السابق. ومن الممكن استخدام هذا المنحنى القياسي في معرفة تركيز محلول مجهول التركيز من هذه المادة وذلك إذا ما قيس امتصاصها (Extinction) للضوء عند طول الموجة التي يتم إعداد المنحنى القياسي عندها. يجب قياس المحلول عند طول موجة معينة وهي طول الموجة التي يكون عندها أقصى قـــدرة لامتصاص الضوء Maximum Absorption حيث تكون أكثر حساسية. كما أن الكثافة اللونية للمحلول يجب أن تقدر خلال مدة زمنية محدودة تبعاً لنوع المحلول المراد قياسه لكي تكون النتائج قياسية دقيقة. بالإضافة إلى أن المحلول يجب ألاَّ يكون مركزاً جداً بحيث يمتص جميع الضوء الساقط عليه.



الشكل رقم(٢٦– ب). العلاقة بين النفاذية ٪ والامتصاص.

وتعتبر أجهزة قياس الطيف الضوئي Spectrophotometry أنواعاً متطورة لتلك القياسات حيث تتميز بوجود منشور Prism لتحليل الضوء إلى أطوال مختلفة من الموجات، فيمكن فصل كل طول موجي عن الآخر على حدة؛ وذلك بتمرير الضوء المحلل (الطيف Spectrum) خلال فتحة ضيقة (Slot) تسمح بمرور طول موجي واحد (Monochromatic light) كذلك مزود الجهاز بخلية ضوئية كهربية (Photoelectric cell) تفوق العين المجردة في تقدير الكثافة اللونية والضوئية، كما بالشكل رقم (٢٧).



الشكل رقم (٢٧). رسم توضيحي للمكونات الأساسية لجهاز قياس الطيف الضوئي Spectrophotometer .

ويلاحظ أن أغلب أجهزة السبكتروفوتومترات تكون مزودة بمصدر آخر للإشعاع الفوق بنفسجي (U.V lamp) حيث إن بعض المواد (غالباً الغير ملونة) تمتص الأشعة الفوق بنفسجية بدرجة كبيرة عند أطوال موجات تختلف باختلاف المادة. فمثلاً يمتص محلول الأحماض النووية الأشعة فوق البنفسجية بدرجة كبيرة عند موجة ضوئية طولها ٢٦٠ نانومتر (nm) وتمتص محاليل البروتينات الأشعة فوق بنفسجية عند موجة ضوئية طولها ٢٨٠ نانومتر. لذلك يمكن تقدير كل مادة من المواد في وجود الأخرى عند طول الموجة التي عندها يحدث أكبر امتصاص للضوء لهذه المادة بدون حدوث تداخل للمواد الأخرى الموجودة بالمحلول.

إن وحدات الامتصاص هي نفسها وحدات الكثافة البصرية Optical Density (O.D) ، وكما ذكرنا إن هذه الوحدات هي وحدات لوغاريتمية ، وقد سجلت قراءات الكثافة

البصرية لمستخلص الكلوروفيل بعد وضعه في الخلايا الزجاجية على الموجات الضوئية التالية ٦٤٥ ، ٦٥٢ ، ٦٦٣ نانومتر وكذلك لصبغة البيتانين الموجودة في البنجر فكانت ٤٧٥ نانومتر ومحلول الجلوكوز ٥٤٠ نانومتر، ودائماً يرسم المنحنى البياني لتوضيح العلاقة بين طيف الامتصاص لمحلول الصبغة على أن تكون قراءة الكثافة البصرية على المحور الرأسي Ordinate وأن تكون أطوال الأشعة على المحور الأفقي Abscissa ولمعرفة طول موجة الضوء التي يحدث عندها أكبر امتصاص للضوء من قبل مادة ما يرسم منحنى امتصاص Absorption spectrum لمحلول مخفف من المادة عند أطوال موجات متدرجة تصاعدياً ابتداء من الموجة التي طولها ١٩٠ نانومتر حتى موجة ضوئية طولها ٣٩٠ نانومتر إذا كانت المادة تمتص الأشعة الفوق بنفسجية وأكثر من ذلك إلى طول ٨٠٠ نانومتر إذا كانت المادة ملونة. ثم يمثل منحنى الامتصاص بيانياً بحيث يوضح العلاقة بين الامتصاص وطول الموجه. عموماً هناك أجهزة قياس الطيف الضوئي متطورة تقوم برسم المنحنى أوتوماتيكياً مثل جهاز:

(Unican perkin-Elmer U.V.Recording spectrophotometer 402).

ولكن سنقوم الآن بشرح طريقة تشغيل جهـــاز (Spectrophotometer 22) المتاح معملياً:

١- يُشغل الجهاز بوضع مفتاح التشغيل على وضع (On).

٢- تأكد من الجهاز على وظيفة النفاذية Transmittance أي على وضع (T).

٣- اضبط على مقياس الأطوال الموجية الطول الموجي المناسب لكل صبغة أو محلول (أي الذي يحدث عنده أقصى امتصاص للضوء) وليكن ٤٧٥ نانومتر بالنسبة لصبغة البيتانين مثلاً.

٤- تفتح غرفة وضع أنابيب المحاليل Cuvettes (المربعة المقطع ولها جانبان شفافان لنفاذ الضوء وجانبان معتمان، ويلاحظ وضعها بحيث يكون أحد الجوانب الشفافة أمام مسار الأشعة). عند فتح الغطاء يوقف مرور الشعاع الضوئي الداخلي فتكون النفاذية صفر إن لم يحدث فتضبط من مفتاح الصفر(٠).

٥- بعد وضع أنابيب العينات Cuvettes في أماكنها المخصصة لذلك، يعاد الغطاء إلى مكانه المقفل فتصبح قراءة النفاذية في هذه الحالة ١٠٠ ، إن لم يحدث تضبط من مفتاح (١٠٠)، يلاحظ هنا أنه عندما تكون النفاذية ١٠٠٪ ، فلابد أن يكون طيف الامتصاص (A) يساوي صفر. إذن عندما يحول المفتاح (A) فتكون القراءة على المؤشر = صفر.

٦- ضع أنبوبة البلانك Blank بتحريكها أمام مسار الأشعة ثم تؤخذ القراءة.

٧- توضع أنابيب التجربة (العينات) بعد ذلك أمام الأشعة بتحريك العامود المخصص لذلك ثم تؤخذ قراءتها والتي يطرح منها قراءة البلانك.

أو : يصفر الجهاز بعد البلانك تمهيداً لوضع العينات ومن ثم تؤخذ قراءة العينات مباشرة.

ملاحظة

إذا كانت قراءة الجهاز مثلاً ٠,٤٨ طيف امتصاص، معنى ذلك يكون تركيز المادة في المحلول ٠,٤٨ مجم.

ولرسم منحني الامتصاص الضوئي الذي يميز الصبغة عن غيرها من الصبغات حيث إن اختيار طول الموجه الضوئية التي يحدث عندها أقصى امتصاص للضوء لصبغة ما يجعل في الإمكان تقدير مكونات مخلوط من الصبغات كل على حدة عند طول الموجة الخاص بها وذلك في وجود الصبغات الأخرى بالمخلوط.

المحاليل والمواد والأدوات اللازمة

١- جهاز قياس الطيف الضوئي Spectrophotometer مع أنابيب المحاليل Cuvettes (انظر الشكل رقم ٢٨ أ ، ب).

٢- محلول بروموفينول الأزرق Bromophenol Blue يحضر بإذابة ١٠ مجم من الصبغة (B.P.B.) في لتر ماء مقطر.

٣- محلول الميثايل البرتقالي Methyl orange يحضر بإذابة ١٠ مجم من الصبغة (M.O.) في لتر ماء مقطر.

٤- مخلوط من محلول الصبغتين معاً بنسبة ١ : ١ بحيث يكون تركيز كل منهما بالمحلول ١٠ مل/ل).

٥- أوراق رسم بياني (أو يستخدم الكومبيوتر لرسم المنحنى البياني).

الشكل رقم (٢٨– أ). يوضح جهاز قياس الطيف الضوئي Spectrophotometer المستخدم معملياً.

الشكل رقم (٢٨– ب). يوضح أنابيب Cuvette الخاصة بجهاز قياس الطيف الضوئي . Spectrophotometer

طريقة العمل

١– تضبط قراءة جهاز قياس الطيف الضوئي (تدريج الامتصاص A) إلى الصفر باستخدام الماء المقطر.

٢– توضع الصبغة (برتقالي الميثيل) في الأنبوبة الخاصة بها في الجهاز ثم يقدر امتصاصها للضوء عند أطوال موجات ضوئية مختلفة ابتداءا من طول الموجة الضوئية ٤٠٠ نانومتر مع زيادة عشر درجات نانومترية في كل مرة.

٣– تكرر الخطوة السابقة بالنسبة للصبغة الثانية (بروموفينول الأزرق).

٤– يرسم منحنى الامتصاص الضوئي (لكل صبغة) بحيث يمثل المحور الأفقي طول الموجة الضوئية ويمثل المحور الرأسي الامتصاص.

٥- ضع المحلول المحتوي على مخلوط الصبغتين معاً في الأنبوبة الخاصة بها في الجهاز ثم قدر امتصاص كل صبغة وذلك بضبط الجهاز عند طول الموجة الذي حدث عنده أقصى امتصاص بالنسبة للصبغة الأولى. ثم يقرأ تدريج الامتصاص (ويكون معبراً عن امتصاص الصبغة الأولى). ثم يعاد ضبط الجهاز عند طول الموجة التي حدث عندها أقصى امتصاص بالنسبة للصبغة الثانية ثم يقرأ تدريج الامتصاص (ويكون معبراً عن امتصاص الصبغة الثانية).

النتائج

١- دون النتائج في الجدول المرفق.

٢- ما هو طول الموجة الضوئية التي حدث عندها أقصى امتصاص للضوء ؟

أ) صبغة (M.O.)= ..... نانومتر

ب) صبغة (B.P.B.) = ... نانومتر

٣- دون نتيجة امتصاص المحلول المحتوي على مخلوط الصبغتين معاً وذلك عند القياس على الموجة التي حدث عندها أقصى امتصاص للضوء لكل صبغة :

أ) مقدار الامتصاص للضوء للصبغة الأولى (M.O.) = ...

ب) مقدار الامتصاص للضوء للصبغة الثانية (B.P.B.) = ...

٤- من مقارنة النتائج المتحصل عليها (عند استخدام نفس الطول الموجي لكل صبغة)، وضح هل يؤثر خلط الصبغتين معاً على الامتصاص الضوئي لكل صبغة على حدة ؟

obeikandl.com

دون النتائج في الجدول التالي:

طول الموجة * نانوميتر	امتصاص الصبغة الأولى (M.O.) للضوء	امتصاص الصبغة الثانية (B.P.B) للضوء
٤٠٠		
٤١٠		
٤٢٠		
٤٣٠		
٤٤٠		
٤٥٠		
٤٦٠		
٤٧٠		
٤٨٠		
٤٩٠		
٥٠٠		
٥١٠		
٥٢٠		
٥٣٠		
٥٤٠		
٥٥٠		
٥٦٠		
٥٧٠		
٥٨٠		
٥٩٠		
٦٠٠		
٦١٠		
٦٢٠		
٦٣٠		
٦٤٠		
٦٥٠		
٦٦٠		
٦٧٠		
٦٨٠		
٦٩٠		
٧٠٠		

* في حالة استخدام فوتوميتر عادي مع عدد من الفلاتر، يدون لون الفلتر (بالجدول) بدلاً من طول الموجة.

obeikandl.com

مقدمة في فسيولوجيا النبات العملية

تقرير التجربة العملية

عنوان التجربة: .....

اسم الطالب: .....

الرقم الجامعي: .....

تاريخ بدء التجربة: .....

تاريخ نهاية التجربة: .....

تاريخ تقديم التقرير: .....

١– الملخص:

.....

.....

.....

.....

٢– الهدف من التجربة:

.....

.....

.....

.....

obeikandl.com

٣– المواد وطريقة العمل (مختصرة من التجربة):

.....

.....

.....

٤– النتائج:

.....

.....

.....

٥– المناقشة:

.....

.....

.....

٦– إجابة الأسئلة:

.....

.....

.....

٧– المراجع :

.....

.....

.....

٨– استفسارات عن النقاط غير الواضحة:

.....

.....

.....

obeikandl.com

التجربة رقم (١٣) : تأثير شدة الإضاءة ودرجة الحرارة على عملية البناء الضوئي باستخدام نبات الإيلوديا *Elodea* sp. المغمور في بيكربونات الصوديوم

مقدمـــة

يتأثر البناء الضوئي (كعملية أيضية) بعدة عوامل داخلية مثل الكلوروفيل وحيوية البروتوبلازم وتراكم نواتج البناء الضوئي، وكذلك عوامل بيئية خارجية قد تزيد أو تقلل من معدل البناء الضوئي Photosynthetic rate، ومن هذه العوامل: الضوء، ودرجة الحرارة، وتركيز ثاني أكسيد الكربون، وتركيز الأكسجين، والإجهاد المائي، والعناصر الغذائية، وتأثير الرياح، وأخيراً النشاط البشري. بالطبع مناقشة تأثير كل هذه العوامل – في آن واحد – على معدل البناء الضوئي تعتبر عملية ليست بالبسيطة، ولكن من السهل مناقشة تأثير كل عامل على حده. في تجربتنا هذه سنقوم بدراسة عاملي الضوء، ودرجة الحرارة فقط لما لهما من أهمية كبرى في التحكم في معدل البناء الضوئي.

يعود تأثير الضوء على أنه عامل رئيس للتفاعلات الكيموضوئية Photochemical reactions، فتعرف عملية البناء الضوئي أحياناً بأنها عملية تحويل طاقة الضوء (الشمس) إلى طاقة كيميائية (سكريات)، لذلك تعتبر الإضاءة – كما يستنتج من تسمية العملية – عاملاً أساسياً لإتمامها. كذلك تأثير الضوء يعتبر منبه للنبات كي تنفتح الثغور لإدخال غاز ثاني أكسيد الكربون اللازم لبدء عملية البناء الضوئي (كما هو واضح من معادلة البناء الضوئي).

كذلك ترجع أهمية الضوء في بناء جزيئات الكلوروفيل وفي تشكل وتكون البلاستيدات الخضراء Chloroplasts من البلاستيدات الشاحبة Etioplasts. وتعتبر شدة الإضاءة تحت الظروف الطبيعية هي العامل المحدد لمعدل البناء الضوئي، وهناك علاقة

طردية بينهما ولكن إلى حد معين من شدة الإضاءة تتشبع عندها العملية فلا يزيد الارتفاع في شدة الإضاءة من معدل البناء الضوئي. ولوحظ كذلك أن أقصى معدل للبناء الضوئي يكون تقريباً في وقت الظهر وينقص عندما يتعرض النبات إلى الغيوم. ويلاحظ كذلك أنه عند شدة إضاءة معينة تتساوى كمية ثاني أكسيد الكربون المتصاعدة في التنفس مع الكمية المستخدمة في البناء الضوئي، وتسمى شدة الإضاءة في هذه الحالة بالنقطة الحرجة الحدية للضوء Light compensation point. من ناحية أخرى تعتمد شدة الإضاءة ـ التي تشبع عملية البناء الضوئي في أي نبات تحت الظروف الطبيعية ـ على العوامل الأخرى التي تؤثر في معدل البناء الضوئي وخاصة درجة الحرارة وتركيز ثاني أكسيد الكربون. فدرجة الحرارة تعتبر من العوامل البيئية المهمة التي تؤثر في عملية البناء الضوئي، فتأثيرها يعتبر ذو شقين، الأول تأثير مباشر يكون واضحاً إذا ما توافرت العوامل الأخرى لحدها الأمثل وتأثير الحرارة هنا غالباً ينحصر في تأثيرها على معدل التفاعل الكيميائي أي أن تأثيرها يكون على النشاط الإنزيمي أساساً وهو ما يسمى بتفاعلات الظلام Dark reactions في عملية البناء الضوئي. أما الشق الثاني من تأثير الحرارة على البناء الضوئي فهو غير مباشر مثل تأثير الحرارة على زيادة معدل النتح مما يؤدي إلى إغلاق النباتات لثغورها وهذا يؤدي إلى تثبيط شديد للغاية في معدل البناء الضوئي لعدم توافر ثاني أكسيد الكربون. كذلك عند تعرض النباتات إلى انخفاض أو ارتفاع في درجة الحرارة فوق المدى الفسيولوجي، فإن ذلك قد يؤدي إلى ضرر لأغشية البلاستيدات، كذلك فإن اختلاف النباتات في الاستجابة لدرجة الحرارة يعود إلى عملية تأقلم النباتات لتغيرات درجة الحرارة السائدة في بيئاتها.

فمثلاً تكون درجة الحرارة المثلى للبناء الضوئي في النباتات المتأقلمة للظروف الصحراوية الحارة أعلى من درجة الحرارة المثلى للنباتات المتأقلمة للظروف الباردة.

فالتأقلم في البيئات الباردة قد يعود إلى زيادة في تركيز بعض إنزيمات التفاعلات اللاضوئية، أما في البيئات الحارة فالمتوقع هو أن تغيرات الخصائص الفيزيائية لدهون أغشية البلاستيدة هي التي تؤدي إلى زيادة في الثبات الحراري، هذا بالإضافة إلى الثبات الحراري لبعض الإنزيمات الذي يعتبر من أهم العوامل المحددة لمدى تحمل النبات لدرجة الحرارة العالية.

دلت بحوث كثيرة والتي استعملت فيها أنواع نباتية مختلفة على أن سرعة البناء الضوئي، ما لم تكن محددة بأحد العوامل الأخرى، تزداد بارتفاع درجة الحـــرارة من -٦ إلى ٣٧ °م، وإن ارتفاع درجة الحرارة عن هذا المدى يسبب الانخفاض السريع في المعدل. ولا تظل النهاية القصوى للعملية بعد ٣٠ °م ثابتة، بل في الحقيقة يصبح عامل الزمن مهماً بعد درجة ٢٥ °م، فينخفض معدل العملية بمرور الوقت. وكلما كانت درجة الحرارة أعلى كان الانخفاض أسرع. ويعزى انخفاض معدل العملية مع الزمن- وخاصة في درجات الحرارة المرتفعة — إلى بعض العوامل الداخلية التي ربما يكون أهمها التأثير الإتلافي للحرارة على الإنزيمات وغيرها من مكونات البروتوبلازم، ما لم يكن ثاني أكسيد الكربون وشدة الإضاءة أو غيرهما من العوامل محدداً للعملية، فإن الازدياد في معدل البناء الضوئي بين - ٦ ، ٢٥ °م، يكون منتظماً.

ويمكن الاستدلال على تأثير كل من الضوء ودرجة الحرارة على عملية البناء الضوئي في النباتات الخضراء باستعمال نبات مائي كالإيلوديا، فإذا وضعت قطعة من هذا النبات في ماء مذاب به ثاني أكسيد الكربون أو مركب بيكربونات الصوديوم (كمصدر لثاني أكسيد الكربون المذاب في البيئة المائية) ثم عرضت هذه النباتات إلى ضوء الشمس، يشاهد صعود فقاعات غازية تتصاعد من سطح الأجزاء النباتية، فإذا جُمعت هذه الفقاعات وكُشف عنها تبين أنها غاز الأكسيجين، (انظر الشكل رقم ٢٩).

لذلك تهدف هذه التجربة إلى دراسة تأثير شدة الإضاءة ودرجة الحرارة على معدل البناء الضوئي في أجزاء نباتية من الإيلوديا باستخدام بيكربونات الصوديوم.

الشكل رقم (٢٩). فقاعات غازية (أكسجين) على أسطح أوراق نبات *Elodea* sp. ناتجة عن عملية البناء الضوئي عند وضع النبات في محلول بيكربونات الصوديوم.
(عن ريفن بيتر إتش وآخرون ـــ ترجمة الوهيبي والخليل ٢٠٠٥م)

المواد اللازمة

١- مجموعة نباتات من الإيلوديا النامية بصورة جيدة
٢- مصدر إضاءة صناعية، كمصباح ضوئي أبيض قوته شديدة.
٣- محلول مائي من بيكربونات الصوديوم تركيزه (٠,١ ٪) بمعدل ١٥٠مل.

٤- أنابيب اختبار زجاجية كبيرة الحجم ذات أقطار لا تقل عن ٢٠مم.

٥- جهاز مبسط لقياس شدة الإضاءة Light meter

٦- كاسات زجاجية.

٧- أعمدة زجاجية سميكة.

٨-حاجز ورقي أو بلاستيك شبه شفاف لحجب الإضاءة قليلاً عن النبات (أي يجعل الضوء غير مباشر).

٩- حمام مائي ساخن.

١٠- ترمومتر ومسطرة وشفرات حادة.

طريقة العمل

أولاً: دراسة العلاقة بين شدة الإضاءة وعملية البناء الضوئي

١- انتخب نبات إيلوديا سليم وذو نمو جيد، ثم اقطع بالشفرة الجزء السفلي منه.

٢- اغمر النبات المقطوع مقلوباً (أي قمته لأسفل) في أنبوبة اختبار كبيرة الحجم تحتوي على محلول مائي من بيكربونات الصوديوم (٠,١ ٪).

٣- حاول أن يكون النبات دائماً مغموراً تحت سطح المحلول وإن لم يكن فقم بربطه على عمود زجاجي بخيط رفيع لإبقائه تحت سطح المحلول دائماً.

٤- لقياس المعدل النسبي لعملية البناء الضوئي تحت ظروف شدة إضاءة مختلفة، عرض الأنبوبة وبها النبات إلى ضوء المصباح الصناعي الشديد (على درجة حرارة الغرفة) وذلك لمدة دقيقتين.

٥- أجرِ عملية العد للفقاعات الغازية التي تظهر على سطح الأجزاء النباتية ثلاث مرات على فترات زمنية قدرها دقيقة واحدة.

٦- عرض الأنبوبة وبها النبات والمحلول إلى ضوء غير مباشر Diffused light لمدة دقيقتين أيضاً، ثم حدد المعدل النسبي لعملية البناء الضوئي وذلك بأخذ عدد الفقاعات الغازية الناتجة حالياً بمعدل ثلاث مرات على فترات زمنية قدرها دقيقة واحدة.

٧- المرحلة الثالثة هي نقل النبات (بالأنابيب) إلى جزء مظلم بالمختبر لمدة دقيقتين، ثم كرر ما فعلته سابقاً بقياس المعدل النسبي للبناء الضوئي في هذه الحالة بتقدير عدد الفقاعات الغازية بمعدل أيضاً ثلاث مرات كل دقيقة.

٨- باستعراض القراءات في المراحل الثلاثة والمدونة في جدول وبيانياً، يمكن قياس المعدل النسبي للبناء الضوئي تحت ظروف الحالات الثلاثة من الإضاءة.

٩- لكنه يمكن تعديل وتطوير التجربة السابقة وذلك باستخدام العلاقة بين شدة الإضاءة والمسافة بين مصدر الضوء والنبات كما بالمعادلة التالية :

$$I_2 = I_1 \left(\frac{d_1}{d_2} \right)^2$$

حيث إن

d_1 = المسافة الأصلية بين مصدر الإضاءة والنبات.

d_2 = المسافة الجديدة بين مصدر الإضاءة والنبات.

I_1 = شدة الإضاءة الأصلية عند النبات الموجود على مسافة d_1

I_2 = شدة الإضاءة عند النبات الموجود على المسافة الجديدة d_2

obeikandl.com

١٠- لاحظ من المعادلة السابقة أنه عند مضاعفة المسافة بين مصدر الإضاءة والنبات (أي عندما أصبحت d_2 ضعف d_1) فإن شدة الإضاءة الجديدة (I_2) ستصبح ربع شدة الإضاءة الأصلية (I_1)

١١- حدد شدة الإضاءة الأصلية باستعمال خلية ضوئية Photo cell ثم قس المعدل النسبي لعملية البناء الضوئي عندها (لعدة فترات كل منها دقيقة واحدة).

١٢- ابعد النبات عن مصدر الإضاءة ثم سجل المسافة الجديدة بين مصدر الإضاءة والنبات (حتى يمكن تحديد شدة الإضاءة الجديدة عند النبات باستخدام المعادلة السابقة).

١٣- سجل معدل البناء الضوئي كما سبق.

ملاحظة مهمة: تأكد دائماً إن درجة حرارة محلول بيكربونات الصوديوم المغمور فيه نبات الإيلوديا أن تظل ثابتة وذلك باستخدام الثرموميتر.

١٤- سجل البيانات والنتائج الجديدة ثم دون مشاهداتك مع التفسير.

ثانياً: دراسة العلاقة بين درجة الحرارة ومعدل البناء الضوئي

طريقة العمل

١- اختار نبات إيلوديا جديد ذو نمو قوي وسليم، واقطع بالشفرة الجزء السفلي منه.

٢- اغمر النبات المقطوع مقلوباً في أنبوبة اختبار بها محلول بيكربونات الصوديوم ٠,١ ٪ .

٣- قم بقياس المعدل النسبي للبناء الضوئي لنبات الإيلوديا المغمور في المحلول على درجات الحرارة التالية : ٢٠ ، ٣٠ ، ٤٠ ، ٥٠ °م، وذلك بنقل الأنبوبة المحتوية على النبات والمحلول إلى كأس كبير به ماء ضُبطت درجة حرارته المطلوبة

باستخدام حمام مائي ساخن (يجب مراعاة أن تكون الحرارة في الكأس أعلى بدرجة أو درجتين).

٤- سجل معدل البناء الضوئي لكل درجة حرارة لعشرة فترات زمنية كل منها دقيقة واحدة.

٥- دون النتائج بدقة في جدول ثم ارسم منحنيات بيانية توضح العلاقة بين شدة الإضاءة ومعدل البناء الضوئي، وكذلك بين درجات الحرارة المختلفة والبناء الضوئي.

أجب على الأسئلة التالية ودونها في التقرير

أ) ماذا تعني الفقاعات الناتجة على سطح أوراق النبات ؟

ب) قارن بين الطريقة الأولى لعلاقة البناء الضوئي وشدة الإضاءة وبين الطريقة الثانية التي استخدمت فيها معادلة المسافة بين النبات ومصدر الإضاءة ؟

ج) علل لماذا استخدمنا محلول بيكربونات الصوديوم ؟

د) لاحظت أن الفقاعات تقل كلما قلت شدة الإضاءة . علل ذلك؟

هـ) ناقش أهمية جميع العوامل اللازمة لإتمام عملية البناء الضوئي التي ذكرت في التجربة والعوامل الأخرى التي لم تذكر.

obeikandl.com

مقدمة في فسيولوجيا النبات العملية

تقرير التجربة العملية

عنوان التجربة: .....

اسم الطالب: .....

الرقم الجامعي: .....

تاريخ بدء التجربة: .....

تاريخ نهاية التجربة: .....

تاريخ تقديم التقرير: .....

١– الملخص:

.....

.....

.....

.....

٢– الهدف من التجربة:

.....

.....

.....

.....

obeikandl.com

٣– المواد وطريقة العمل (مختصرة من التجربة):

.....

.....

.....

٤– النتائج:

.....

.....

.....

٥– المناقشة:

.....

.....

.....

٦– إجابة الأسئلة:

.....

.....

.....

٧– المراجع :

.....

.....

.....

٨– استفسارات عن النقاط غير الواضحة:

.....

.....

.....

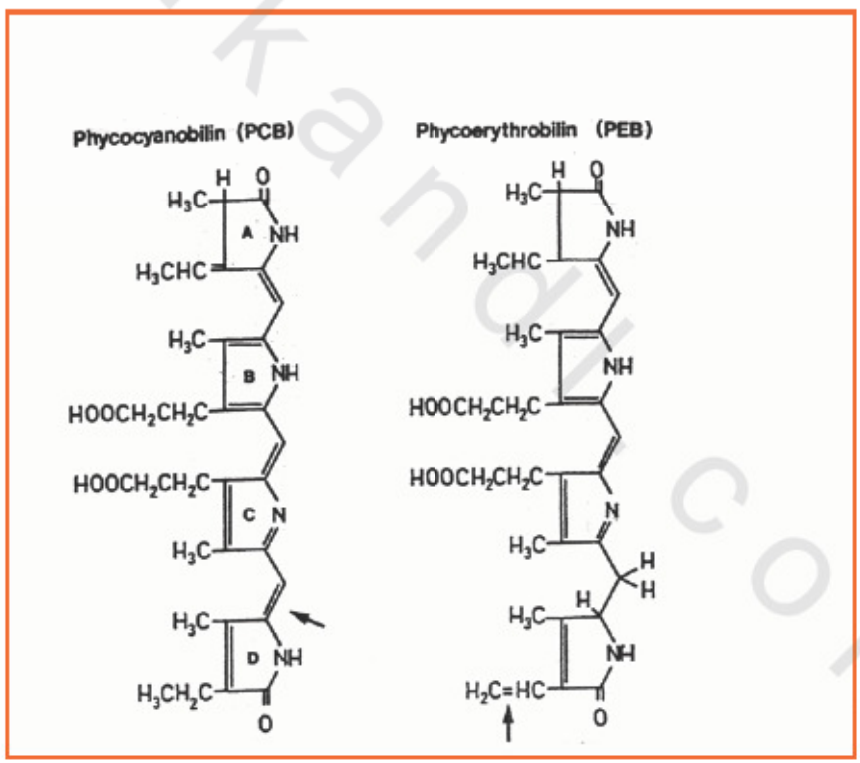
obeikandl.com

التجربة رقم (١٤) : الكشف عن صبغات الفيكوبلينات Phycobilins (مثل الفيكوسيانين Phycocyanins) الموجودة في الطحالب والسيانوبكتيريا

مقدمـــة

توجد مركبات البليبروتين الحمراء Red biliprotein وتسمى فيكو إريثرين Phycoerythrins وكذلك توجد مركبات البليبروتين الزرقاء Blue biliprotein وتسمى فيكوسيانين Phycocyanins بكثرة في الطحالب والبكتيريا التي تقوم بالتمثيل الضوئي (السيانوبكتيريا Cyanobacteria)، (انظر الشكل رقم ٣٠). يسمى الجزء الحامل للون Chromophore moiety في مركبات البيليبروتين باسم فيكوبلين Phcobilin ويكون متصلاً اتصالاً وثيقاً بالبروتين مما يجعل دراسة خواص الفيكوبلين في صورته النقية أمراً صعباً جداً، لذلك دراسة هذه الصبغات ينتج عن دراسة مركب أو معقد الصبغة مع البروتين. من ناحية أخرى فإن طيف الامتصاص absorption spectrum لصبغات الفيكوبلين ذات أهمية خاصة إذا أخذنا في الاعتبار أن الفيكوبلين له نشاط في نقل الطاقة الضوئية إلى الكلوروفيل لاستغلالها في البناء الضوئي. فنجد أن تلك الصبغات تمتص الضوء بكفاءة في مجال من أطوال الموجات الضوئية التي لا يمتصها الكلوروفيل، لذلك فهي تعتبر صبغات مساعدة Accessory pigments ؛ لأن دورها في التمثيل الضوئي دوراً غير مباشراً. من ذلك يمكن الحصول على دليل تجريبي يدل على مشاركة الصبغات المساعدة بجانب الكلوروفيل في عملية اقتناص الطاقة الضوئية وذلك بمقارنة طيف الامتصاص لنبات أو نسيج أو خلية أو صبغة ما مع طيف الفعل أو الأداء Action spectrum لعملية التمثيل الضوئي وطيف الفعل أو الأداء هو مقياس يوضح كفاءة أو معدل العملية الفسيولوجية (التي يلزمها الضوء) على موجات الضوء المختلفة الأطوال وذات الكثافة الضوئية الواحدة.

وتهدف هذه التجربة مقارنة طيف الامتصاص لتلك الصبغات مع طيف الامتصاص للكلوروفيل. يمكن فصل جميع هذه الصبغات بطريقة التفريد الكهربائي Electrophoresis. كذلك فإن أقصى معدل لامتصاص تلك الصبغات يكون عند أطوال موجات تنحصر بين ٤٠٠ ـ ٧٠٠ نانومتر فتتلخص هذه التجربة في استخلاص وفصل صبغات الفيكوبيليبروتين من السيانوبكتيريا أو بعض الطحالب الحمراء باستخدام تقنية جيل الأجاروس للتفريد الكهربائي بالإضافة إلى تقدير طيف الامتصاص لها.



الشكل رقم (٣٠). يوضح التركيب الجزيئي صبغة الفيكوايريثروبيلين وصبغة الفيكوسيانوبيلين (في الطحالب والسيانوبكتيريا).

المواد والأجهزة المستخدمة

١- زن حوالي ٥ جم من عينات طحالب جافة (مجمدة).

٢- هاون mortar.

٣- جهاز تجانس homogenizer .

٤- محلول منظم buffer solution .

٥- شاش وأوراق ترشيح.

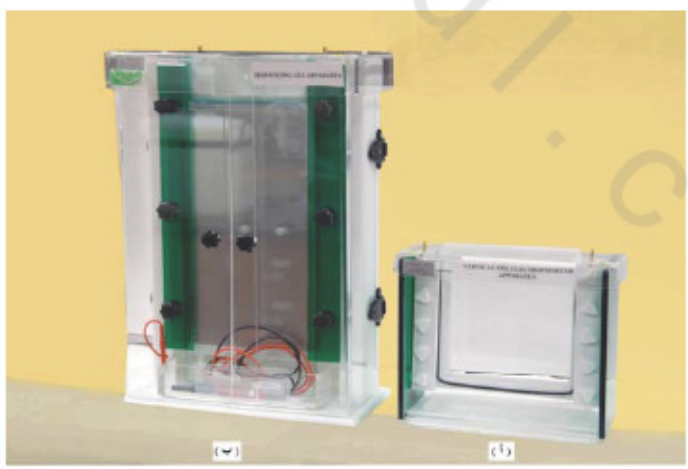
٦- جهاز طرد مركزي Centrifugation .

٧- كبريتات الأمونيوم ($(NH_4)_2 SO_4$ Ammonium sulfate صلبة أو سائلة.

٨- جل أجاروس Sephadex G-25 (محضر سابقاً).

٩- ماصات باستير Pasteur pipette .

١٠- جهاز التفريد الكهربي Electrophoresis ، (انظر الشكل رقم ٣١ أ ، ب).



الشكل رقم (٣١). يوضح (أ) جهاز التفريد الكهربائي الرأسي Vertical Gel Electrophoresis Apparatus (ب) جهاز الجل لإيضاح تسلسل الحـــزم Sequencey Gel Apparatus

١١- حمام مائي Water bath .

١٢- سكروز صلب Solid sucrose .

طريقة العمل

كما هو موضح بالشكل رقم (٣٢)

أولاً: عملية الاستخلاص Extraction

١- اطحن ٢٠ جرام من الطحالب الطازجة أو ٥ جم من الطحالب المجمدة الجافة في هاون خزفي.

٢- يمزج النسيج المطحون جيداً بجهاز التجانس لمدة ١٢ — ١٧ ساعة على درجة ٥ °م.

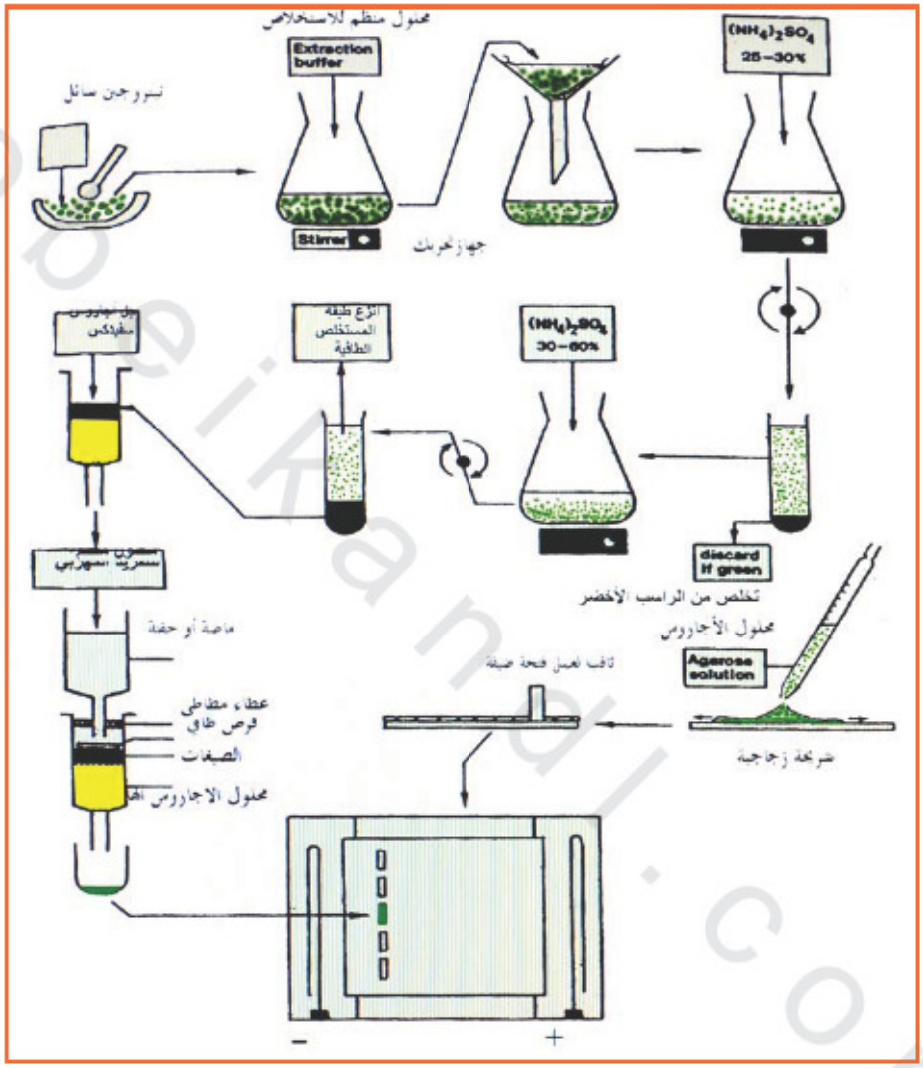
ثانياً: عملية التنقية Purification

٣- قم بترشيح المعلق الناتج باستخدام عدة طبقات من الشاش ثم بورق الترشيح.

٤- استخدم الطرد المركزي (لمدة ٥ دقائق على معدل ٢٠٠٠ دورة / دقيقة) وذلك لكل مكونات الراشح الناتج من عملية الترشيح.

٥- في المرحلة الأولى أضف ١٦.٥ جرام من كبريتات الأمونيوم $(NH_4)_2 SO_4$ إلى ١٠٠مل من مستخلص الصبغات الناتج ليعطي تشبع قدره ٣٠ ٪ .

٦- قم بعملية المزج والتحريك لمدة ٣٠ دقيقة حتى يصبح الراسب ذو لون أخضر (وهذا يتكون من الكلوروفيل والبروتين)، تخلص منه بالطرد المركزي (من ٥ ـ ١٠ دقائق بمعدل ٢٠٠٠ دورة)، ثم أضف ٢٠ جم من كبريتات الأمونيوم ليعطي تشبع قدره ٦٠ ٪ فيصبح لون الراسب في هذه الحالة أزرق محمر أو بنفسجي وهذا هو راسب الفيكوبيليبروتين المطلوب للخطوات التالية.



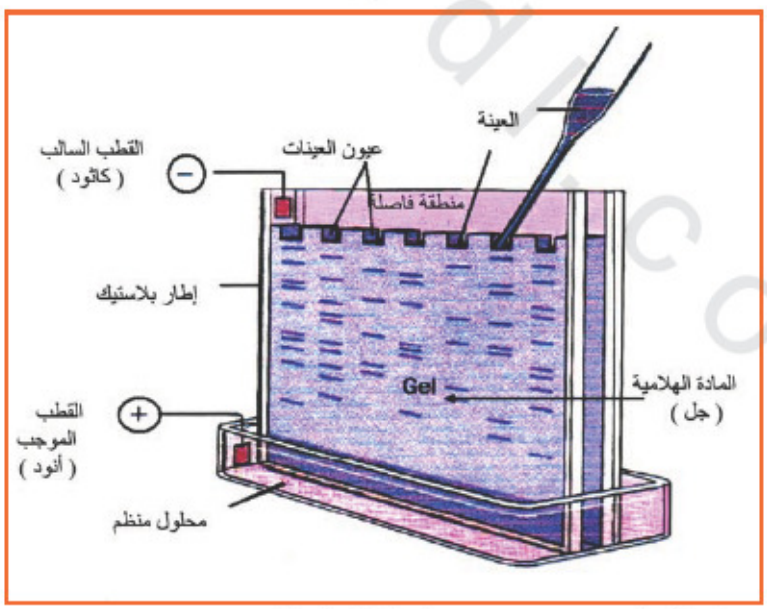
الشكل رقم (٣٢). رسم تخطيطي يوضح مراحل استخلاص وتنقية وفصل الفيكوبيلينات بالتفريد الكهربي.

٧- أضف ١ ـ ٣ من المحلول المنظم إلى راسب الصبغة الناتج.

٨- يؤخذ ١ مل من مستخلص الفيكوبيليبروتين ويوضع على سطح الجل باستخدام أنابيب باستير الشعرية. في هذه الحالة ستنفصل الصبغات كروماتوجرافياً وتتخلص من المحلول المنظم.

ثالثاً: تحضير صفائح الأجاروس Preparation of agarose plates

١- حضر ١٪ من محلول الأجاروس في كأس سعته ١٠٠ مل، وذلك بعمل معلق من الأجاروس مع المحلول المنظم على درجة حرارة الغرفة، ثم ضعه في حمام مائي مغلي. صب ٢٥ مل من محلول الأجاروس الدافئ وذلك بسريانه على ألواح زجاجية (مقاس ١٠ × ١٠ سم) على الوضع الرأسي لكي يتحرك مستخلص الصبغة داخل شقوق الأجاروس المستطيلة ذات الأبعاد ١,٥مم × ٢٠مم)، حفرت سابقا بقوالب ذات الأبعاد نفسها، (انظر الشكل رقم ٣٣).



الشكل رقم (٣٣). توضيح طريقة الفصل الكهربائي electrophoresis .

٢- تزال القوالب بعد ٣٠ ـ ٤٥ دقيقة من بداية التبريد، ثم تترك ألواح الأجاروس في صناديق رطبة (أو ثلاجة) على درجة حرارة ٥ °م لمدة تتراوح من ساعة إلى ساعتين.

رابعاً: التفريد الكهربائي Electrophrosis

تجرى عملية الفصل الكهربي باستخدام تقنية جيل الأجاروس المغمور:-

١- توضع وحدة أو لوح الفرد الكهربي على الوضع الرأسي تماماً ثم تملأ غرف المحلول المنظم بمعدل ٧٥٠مل من المحلول الكهربي المنظم Electrophoresis buffer وتغطى ألواح الأجاروس أيضاً بنفس المحلول المنظم على أن يكون ملء الشقوق باتجاه القطب أو المهبط السالب Cathode.

٢- أضف السكروز الصلب إلى مستخلص محلول الفيكوبيليبروتين النقي (بمعدل ١٠ ٪ وزن/حجم) ثم يذاب جيداً، وهذا يزيد من كثافة وقوام المحلول ويمنع عينات الصبغات من الطفو والخروج عن الشقوق.

٣- أضف باستخدام الماصة من ٥٠ ـ ١٠٠ ميكرولتر (μL) من محلول الفيكوبيليبروتين إلى الشقوق المغطاة بالمحلول المنظم، وذلك باستعمال ماصات شعرية سعتها من ٠,٥- ١ مل (ml).

ثم يتم الفصل بالتيار الكهربي المستمر D.C. (50mA) على درجة حرارة ١٠ °م، وذلك لمدة من ٢-٣ ساعات، (احذر شدة الجهد الكهربي العالي).

٤- تنقل جميع الوحدات إلى الثلاجة بعد اتمام دخول الصبغات إلى جل الأجاروس، نلاحظ بعد ذلك انفصال عينات الصبغة المتجانسة إلى حزم Bands واضحة متفاوتة تبعاً لمصادرها. حيث تصنف أنواع الفيكوبيليبروتينات إلى حزم منفصلة وذلك تبعاً للعامل اللوني أي لكل نوع لون مختلف وكذلك تبعاً لسرعة تحركها على لوح

الأجاروس، فنجد مثلاً أن حزم الفيكوإيريثرين الحمراء Red phycoerythrins (PE) تكون أسرع الأنواع جميعاً في تحركها على ألواح الأجاروس، بالمقارنة مع حزم الفيكوسيانين الزرقاء الداكنة (المكثفة) Intensive blue phycocyanins (PC) على ألواح الأجاروس. وكذلك لكل نوع من أنواع الفيكوبيليبروتينات له لون محدد ومسافة تحرك ثابتة. لذلك تحسب قيمة Rf كما يلي:

$$Rf = \frac{\text{المسافة التي تحركها المركب (المطلوب معرفته) مليمتر}}{\text{المسافة التي تحركها أسرع مركب (Fastest) مليمتر}}$$

خامساً: تقدير طيف الامتصاص Spectrophotometry

ممكن الاستفادة من حزم الصبغات الملونة الكثيفة وذلك بنزعها من على ألواح جل الأجاروس استعداداً لدخولها في عملية تقدير طيف امتصاصها.

١- اقطع المناطق ذات اللون الواحد من على ألواح الأجاروس باستعمال موس حاد جداً، ثم حولها إلى معلق باستخدام المحلول المنظم حتى تتحول إلى محلول ملون رائق.

٢- توضع المحاليل في أنابيب جهاز طيف الامتصاص الضوئي ثم تقاس أطياف الامتصاص لكل مركب على حدة تبعاً لطول موجة كل منها والذي يتراوح بين ٤٠٠ – ٧٠٠ نانومتر (nm) ويفضل في هذه الحالة استخدام جهاز قياس الطيف الضوئي المبرمج بوسائل تسجيل مباشرة إن توفر، (انظر الشكل رقم ٣٤ أ، ب).

(ب) (أ)

الشكل رقم (٣٤). يوضح (أ) سبكتروفوتومتر بالأشعة الفوق بنفسجية للتقدير الكمي للأحماض النووية والصبغات (UV VIS Spectrophotometer)؛ (ب) وحدة سبكتروفوتوميتر للتقدير الكمي للأحماض النووية DNA (Gene Quant Spectrophotometer).

obeikandl.com

obeikandl.com

مقدمة في فسيولوجيا النبات العملية

تقرير التجربة العملية

عنوان التجربة: .....

اسم الطالب: .....

الرقم الجامعي: .....

تاريخ بدء التجربة: .....

تاريخ نهاية التجربة: .....

تاريخ تقديم التقرير: .....

١– الملخص:

.....

.....

.....

.....

٢– الهدف من التجربة:

.....

.....

.....

.....

obeikandl.com

٣– المواد وطريقة العمل (مختصرة من التجربة):

.....

.....

.....

٤– النتائج:

.....

.....

.....

٥– المناقشة:

.....

.....

.....

٦– إجابة الأسئلة:

.....

.....

.....

٧– المراجع :

.....

.....

.....

٨– استفسارات عن النقاط غير الواضحة:

.....

.....

.....

obeikandl.com

التجربة رقم (١٥): تقدير الكلوروفيل في معلق الطحالب Algae Suspension بطريقة الميثانول الساخن

المواد وطرق العمل

١- معلق الطحالب.

٢- جهاز طرد مركزي.

٣- هاون خزفي ويده ، (انظر الشكل رقم ٣٥).

٤- ميثانول ١٠٠٪ (مطلق).

٥- جهاز طيف الإمتصاص Sprectrophotometer .

الشكل رقم (٣٥). يوضح الهاون الخزفي ويده Morter& Pestle لطحن العينات النباتية لاستخلاص بعض المركبات النباتية .

obeikandl.com

طريقة العمل

أولاً: طريقة الاستخلاص

١- يؤخذ حجم ثابت من معلق الطحالب ويجرى له عملية طرد مركزي ويفصل النسيج عن الرائق، ثم يتم طحن النسيج في الهاون الخزفي باستخدام كمية بسيطة من الرمل المغسول بالحامض ويتم ذلك بسرعة.

٢- يضاف ميثانول ساخن بتركيز ١٠٠٪ إلى خلايا النسيج الناتجة من الطرد المركزي لاستخلاص الصبغات ثم يكمل الحجم بالميثانول إلى أقرب حجم صحيح، وبعد الاستخلاص تجرى عملية طرد مركزي مرة أخرى إذا لزم الأمر. (عن Sartory and Grobbelaar عام ١٩٨٤).

٣- تجرى عملية القياس ضد الميثانول ١٠٠٪ في المستخلص باستخدام جهاز سبيكتروفوتوميتر (لقياس الطيف الضوئي) عند ٣ أطوال موجية وهي :

٦٣٠ ، ٦٤٧ ، ٦٦٤ نانوميتر (n m).

ثانياً: طريقة الحساب

يتم حساب كمية الكلوروفيل أ الموجودة بالعينة كما يلى :

$$CHLa\ (Ca) = 11.85\ (O.D.\ 664) - 1.54\ (O.D.\ 647) - O.08(O.D.630)$$

$$CHLa\ \mu_g^{-1} = \frac{Ca\ (CHL) - v}{LV}$$

حيث :

L = طول خلية القياس.

V = حجم معلق الطحالب التي تم عمل طرد مركزي له.

v = حجم الميثانول .

مقدمة في فسيولوجيا النبات العملية

تقرير التجربة العملية

عنوان التجربة: .....

اسم الطالب: .....

الرقم الجامعي: .....

تاريخ بدء التجربة: .....

تاريخ نهاية التجربة: .....

تاريخ تقديم التقرير: .....

١– الملخص:

.....

.....

.....

.....

٢– الهدف من التجربة:

.....

.....

.....

.....

obeikandl.com

٣– المواد وطريقة العمل (مختصرة من التجربة):

.....

.....

.....

٤– النتائج:

.....

.....

.....

٥– المناقشة:

.....

.....

.....

٦– إجابة الأسئلة:

.....

.....

.....

٧– المراجع :

.....

.....

.....

٨– استفسارات عن النقاط غير الواضحة:

.....

.....

.....

obeikandl.com