الفصل الرابع

العلاقات المائية في النبات

مقدمـــــة

تعود أهمية الماء كعامل بيئي في نمو وتوزيع النباتات إلا أن غالبية العمليات الفسيولوجية داخل النبات تتأثر بطريقة مباشرة أوغير مباشرة بوجود الماء. يدخل الماء في تركيب البروتوبلازم وكمية الماء تحدد وجوده كمائع متصلب نوعاً ما Gel ومن ثم كمية الماء تحدد مرونة وتلاصق مكوناته. من ناحية أخرى يلعب الماء دوراً أساسياً بصفته مادة تفاعل فيشارك الماء في كثير من التفاعلات الكيميائية التي تحدث داخل الخلية مثل تفاعلات التحلل المائي Hydrolysis للنشا إلى سكر أو التكثيف وذلك بإضافة أو نزع جزيء من الماء على التوالي. وهذه التفاعلات مهمة في عملية الأيض Metabolism وعمليات البناء الضوئي.

يعمل الماء أيضاً كمذيب للمواد التي تدخل في تفاعلات الخلية مثل السكاكر والأحماض وكمذيب أيضاً لمعظم المواد التي تدخل إلى خلايا النبات لما للأخيرة من جدر وأغشية منفذة للماء بسهولة وينتج عن ذلك استمرارية في الطور السائل في كل أرجاء النبات حيث تحدث عمليات النقل. والماء يلعب دوراً مهماً في ضغط امتلاء الخلية فتحتوي الفجوات الموجودة عادة في الخلية النباتية على كميات كبيرة من الماء للمساعدة

في بقاء الخلية ممتلئة Turgid ، نظراً لخاصية الماء في كونه لا ينضغط عند الضغط الجوي العادي.معظم عمليات النمو في النبات تتوقف عند تغير المحتوى المائي بنسبة ٢٠– ٢٥٪ من المحتوى المائي للعضو النباتي عندما يكون في حالة امتلاء تام.

والطريقة الشائعة لتقدير المحتوى المائي للنبات أو أحد أجزائه هي طريقة الوزن والتجفيف في الفرن عند درجة حرارة من ٨٠ °م إلى ١٠٥ °م حتى يصل إلى وزن ثابت ومن ثم تحسب نسبة الفرق إلى الوزن الرطب الأصلي. تفضل نسبة المحتوى المائي إلى الوزن الجاف وخاصة عندما يكون المحتوى المائي كبير ولو أن النسبة إلى الوزن الرطب هي الأكثر شيوعاً إلا أن نسبة المحتوى إلى الوزن الجاف قد تكون غير دقيقة وخاصة إذا كان الوزن الجاف غير ثابت كنتيجة لاستهلاك أو زيادة المواد التخزينية. بصورة عامة فالماء داخل النبات في حركة دائمة حيث يُمتَص بكميات كبيرة ويُفقد كذلك من معظم النباتات على هيئة بخار والماء بخواصه الفريدة والمميزة يساعد على ثبات درجة حرارة النبات. لأن معظم الماء الموجود في النباتات عموماً يوجد داخل الخلايا وعلى وجه التحديد يوجد في الفجوات التي تكون في غالبية الخلايا النباتية متميزة وكبيرة، لذا فإن فهم العلاقات المائية للنبات يتطلب المعرفة بتركيب الخلايا وعلاقتها المائية. وبما أن الخلايا تختلف في الحجم والشكل والوظيفة والمحتوى المائي والنفاذية فدراسة الظواهر التي تتعلق بحركة المياه كالبلزمة والجهد الأسموزي والنتح تعتبر في غاية الأهمية للمهتمين بعلوم النبات.

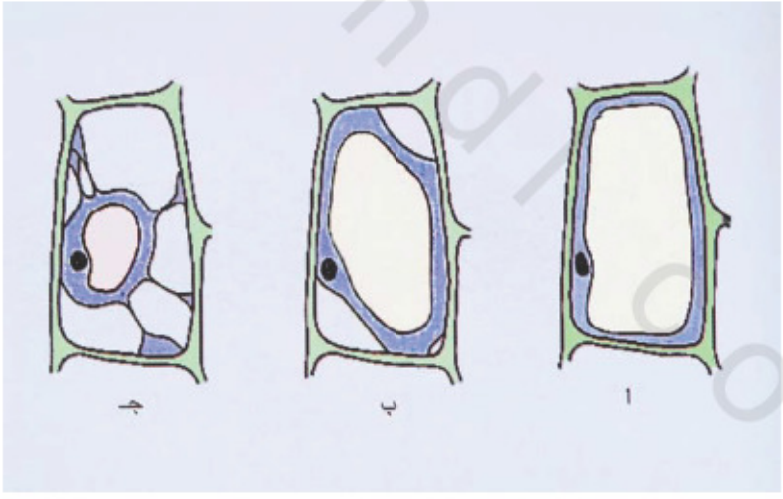
التجربة رقم (١٦): الدراسة العملية لظاهرة البلزمة
Plasmolytic Phenomenon

مقدمـــة

تتكون الخلية من نظام يحوي محلولاً مائياً (العصير الخلوي) ومحدوداً بغشاء منفذ للماء، لذا فإنه إذا غمرت تلك الخلية في محلول مائي وتحت الظروف الطبيعية فهناك ثلاثة احتمالات، إما أن يدخل الماء إلى الخلية وإما أن يخرج منها وإما أن يكون في حالة تعادل (أي أن محصلة دخول وخروج الماء تساوي الصفر). والذي يحدد نوعية هذه الحالات، هو المحلول الخارجي الذي يمكن التحكم فيه، أي أنه عند استعمال محلول جهده الأسموزي (Ψ_s) يساوي الجهد الأسموزي للعصير الخلوي فإن الخلية ستبدو طبيعية، وفي هذه الحالة يوصف المحلول الخارجي بالنسبة للخلية بأنه محلول متعادل الأسموزية Isotonic solution بينما الخلية قد تكون مترهلة flaccid. والحالة الثانية هي عندما تغمر الخلية في محلول جهده الأسموزي أعلى من الجهد الأسموزي للعصير الخلوي فالماء سينتقل من المحلول إلى الخلية حتى يحدث التعادل وفي هذه الحالة يوصف المحلول الخارجي بالنسبة بأنه محلول منخفض الأسموزية Hypotonic Solution بينما الخلية تكون في حالة امتلاء تام (Turgid) والحالة الأخيرة هي عند غمر الخلية في محلول جهده الأسموزي أقل من الجهد الأسموزي للعصير الخلوي فالماء سينتقل من الخلية إلى المحلول الخارجي وفي هذه الحالة يوصف المحلول الخارجي بالنسبة للخلية بأنه محلول عالي الأسموزية Hypertonic Solution بينما الخلية ستصبح مبلزمة Plasmolysed. لذلك تعرف البلزمة بأنها عملية انفصال البروتوبلازم من جدار الخلية وهي تنتج عادة عندما توضع الخلية في محلول عالي الأسموزية أي ذا جهد ماء أقل من جهد الماء الموجود في الخلية حيث أن فرق جهد الماء في هذه الحالة يتسبب في خروجه من الفجوة إلى ذلك المحلول. تعتبر ظاهرة البلزمة للخلايا النباتية من أكثر الظواهر

استغلالاً في دراسة العلاقات المائية للخلية وكذلك الدراسات التي تستهدف تحديد النفاذية والسمية والتي تستلزم التفرقة ما بين الخلايا الحية والخلايا المصابة Injured والخلايا الميتة.

ومن المعروف أن البلزمة قلما تحدث في الطبيعة ولكن عندما تتبلزم الخلية تحت الظروف المعملية فإن محتويات الخلية تنكمش وتبدأ في الإنحسار عن الجدار الخلوي حيث ينتج عن ذلك تكسير للروابط البروتوبلازمية بين الخلايا المتجاورة والمعروفة باسم البلازموديزماتا Plasmodesmata وفي النهاية تظهر أشكال متعددة من أنواع البلزمة التي يمكن فحصها مجهرياً، (انظر الشكل رقم ٣٦). ويرجع هذا التنوع إلى درجة لزوجة السيتوبلازم ونوع المحاليل زائدة الأسموزية المستعملة وأيضاً درجة تأين هذه



الشكل رقم (٣٦). رسم تخطيطي يوضح ظاهرة البلزمة في الخلية النباتية.

(أ) خلية طبيعية .

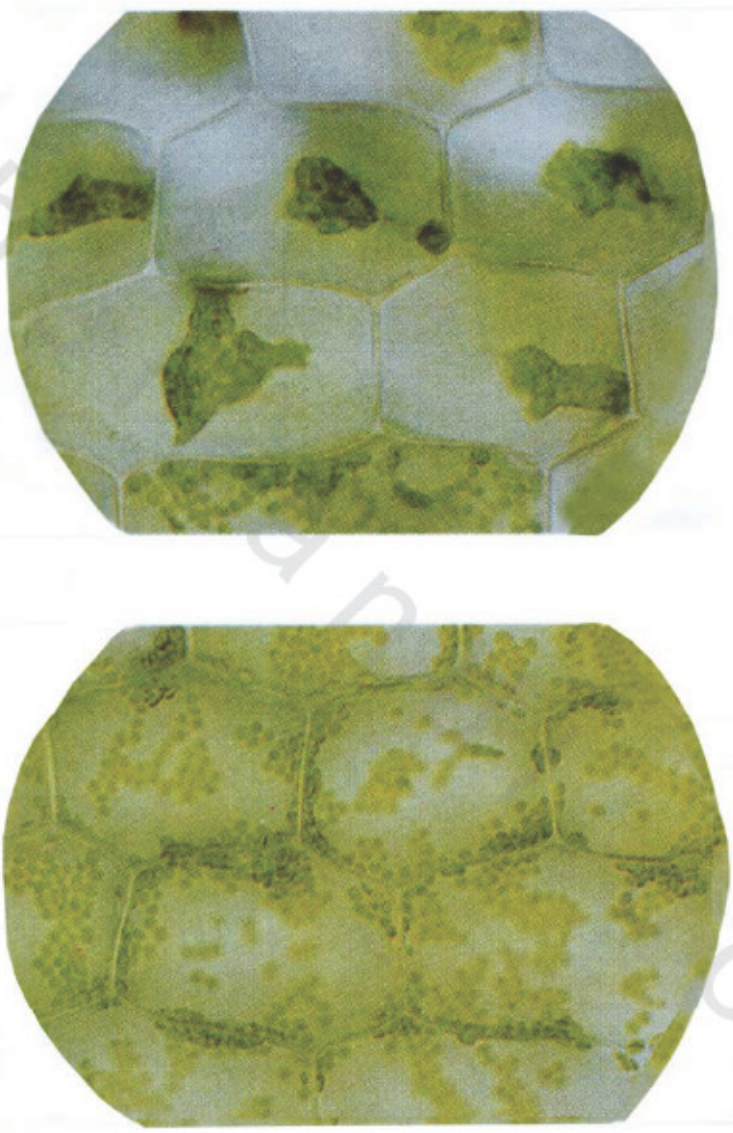
(ب) خلية وضعت في محلول سكروز .

(ج) خلية وضعت في محلول سكروز أكثر تركيزاً .

المحاليل سواء أحادية أو ثنائية أو متعددة التكافؤ أو محاليل غير متأينة. فهناك البلزمة المحدبة Convex plasmolysis وهي تدل على انخفاض في لزوجة السيتوبلازم وهذا النوع من البلزمة يتكون عادة عند استخدام ثيوسيانات البوتاسيوم (KSCN) أو نترات البوتاسيوم كمحاليل للبلزمة، فهي تستحث انتفاخ السيتوبلازم وتقلص الفجوة.

من ناحية أخرى توجد ما يسمى بالبلزمة المقعرة Concave plasmolysis وهي تدل على ارتفاع في لزوجة سيتوبلازم الخلية وغالباً هذا النوع من البلزمة يتكون باستعمال أملاح كاتيونات ثنائية مثل كلوريد الكالسيوم كمحلول للبلزمة. لذلك هناك أشكال أخرى وجميعها لا تلاحظ إلا مجهرياً مثل بلزمة القلنسوة Cap plasmolysis والتقلص الفجوي Vacuolar contraction والذي يعرف أيضاً ببلزمة غشاء الفجوة Tonoplast plasmolysis والتي تحدث بخروج الماء من الفجوة والذي يؤدي إلى تقلصها وذلك عندما يصبح السيتوبلازم في حالة سائلة أو ميتاً. كذلك هناك ما يسمى بالبلزمة الكاذبة والتي تحدث في بعض أنسجة أوراق نبات الإيلوديا عند تعريضها إلى مواد تستحث البلزمة. وفي الغالب تظل الخلايا المبلزمة حية، ولو تركت فترة طويلة في المحاليل فإنها تعود إلى وضعها الطبيعي وذلك بسبب تراكم المواد والاتزان في الجهد المائي، وهو ما يسمى بشفاء الخلايا من البلزمة Deplasmolysis ، (انظر الشكل رقم ٣٧ أ ، ب).

والفكرة من هذه التجربة هو استعمال سلخات من حراشف القواعد المتشحمة للبصل ودراسة نسيجها المبلزم مجهرياً باستعمال بعض المحاليل.



الشكل رقم (٣٧). صورة مجهرية توضح (أ) خلايا نبات الإيلوديا مبلزمة . (ب) شفاء الخلايا من البلزمة Deplasmolysis .

المواد والأدوات اللازمة

١- قواعد الأوراق المتشحمة لنبات البصل *Allium cepa*

٢- أوراق نبات إيلوديا *Elodea canadensis* .

٣- خيوط من طحلب سبيروجيرا *Spyrogira* .

٤- محلول سكروز ٤ ٪ (محضر باستخدام ماء الصنبور).

٥- محلول مكون من نترات بوتاسيوم (٠,٥ جزيئي وزني)ومحلول نترات كالسيوم (٠,٥ جزيئي وزني) بنسبة ٩ : ١ .

٦- محلول سكروز ٢٠ ٪ .

٧- محلول سكروز ٠,٨ جزيئي وزني .

٨- مجهر مركب ضوئي .

٩- شرائح مجهريه وأغطيتها.

١٠- وحدة تفريغ الهواء Vacuum pump إذا لم يكن المعمل مجهز بها .

١١- شفرات وملاقط ذات أطراف حادة .

١٢- أنابيب اختبار زجاجية .

١٣- أطباق بتري وزجاجات ساعة .

١٤- مجفف مع وحدة التفريغ ، (انظر الشكل رقم ٣٨).

طريقة العمل

أولاً: دراسة البلزمة بالطرق البسيطة

١- ضع عدة أوراق من نبات الإيلوديا أو بعض من خيوط طحالب سبيروجيرا في زجاجة ساعة ثم اغمرها بقليل من محلول السكروز ٢٠ ٪ واتركها لمدة ٥ - ١٠ دقائق.

obeikandi.com

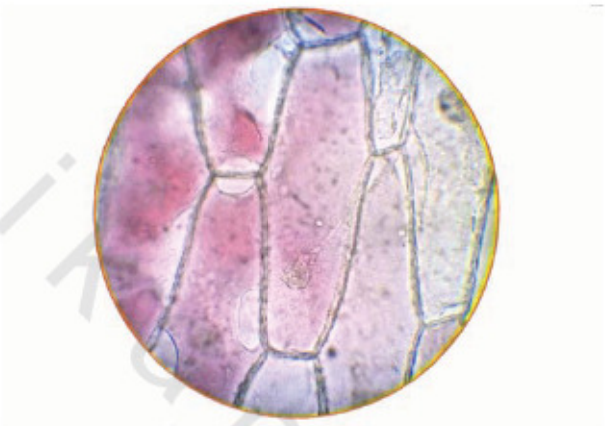
الشكل رقم (٣٨). يوضح المجفف الزجاجي لوضع أنابيب العينات النباتية ثم يلحق به مضخة تفريغ الهواء.

٢- ضع جزء منها على شريحة زجاجية ثم أضف قطرة من محلول السكروز ٢٠٪ وغطها بالغطاء الزجاجي ثم افحصها جيداً على قوة التكبير الكبرى للعدسة الشيئية.

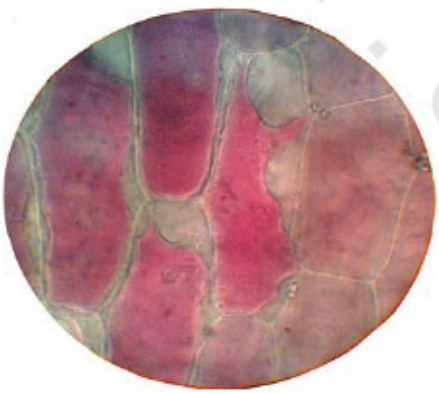
٣- لاحظ انكماش البروتوبلازم بعيداً عن الجدار الخلوي وتجمعه في مكان ما بالخلية.

٤- ارسم الخلايا وهي في حالة البلزمة أو قم بتصويرها مجهرياً كما بالشكل رقم (٣٩أ ، ب ، جـ). وتعرف على شكل البلزمة كما في المقدمة.

٥- أعد نفس العينات إلى زجاجة الساعة واتركها في محلول ا لسكروز ٢٠٪ مرة أخرى ولكن لمدة نصف ساعة لكي تصل إلى حالة الاتزان ثم افحصها وأوصف ما تشاهده.

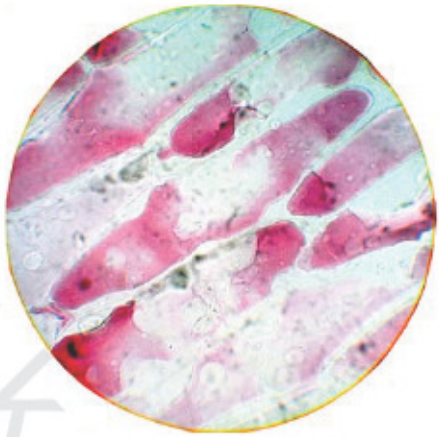


الشكل رقم (٣٩- أ). صورة مجهريه توضح خلية ممتلئة في الأوراق المتشحمة للبصل وخلايا أخرى في بداية التبلزم.



الشكل رقم (٣٩- ب). صورة مجهريه توضح الخلايا المبلزمة في الأوراق المتشحمة لنبات البصل.

obeikandl.com



الشكل رقم (٣٩– ج). صورة مجهريه توضح أقصى درجة لتبلزم الأوراق الحرشفية لنبات البصل لتقدير البلزمة الحدية.

ثانياً: دراسة البلزمة باستعمال محلول غير متأين

١– اقطع أجزاء من قواعد الأوراق المتشحمة لنبات البصل إلى مربعات، طول ضلعها ٢ سم.

٢– قسم بمشرط هذه المربعات إلى مربعات متساوية طول ضلعها ٣ مم تقريباً من ناحية البشرة الداخلية للأوراق المتشحمة (وهي تشريحياً تمثل البشرة العليا) بقطاعات عمودية على سطح البشرة وعلى أعماق غير عميقة بحيث لا تفصل القطاعات تماماً.

٣– انقل تلك المربعات الكبيرة من أوراق البصل إلى أنابيب اختبار واسعة محتوية على محلول سكروز ٤٪ (محضر باستخدام ماء الصنبور).

٤– انقل الأنابيب وبها العينات إلى مجفف متصل بمضخة تفريغ الهواء، (انظر الشكل رقم ٣٨) أو مستخدماً صمام تفريغ الهواء المجهز بالمعمل (مكتوب عليه

حرف Vac)، ثم أجرِ عملية التفريغ للأنسجة لمدة ٥ دقائق مع مراعاة عدم تغطية الأنابيب. تتبع هذه الخطوة لغرضين، الأول التخلص من الهواء الموجود في المسافات البينية للنسيج وثانياً فإن التفريغ يضعف ترابط طبقة البشرة Epidermis بالنسيج الوسطي Mesophyll tissue المكونان بصفته جزءاً من التركيب الداخلي للورقة.

٥- بعد الانتهاء من عملية التفريغ، اخرج الأنابيب المحتوية على نسيج البصل ولكن بحرص حتى يدخل الهواء الخارجي تدريجياً للمجفف.

٦- استخدم الملقط لفصل القطع المربعة الصغيرة للبشرة ثم انقلها مباشرة إلى أطباق بتري تحتوي على محلول السكروز ٤٪ مع مراعاة أن تكون طبقة الأدمة Cuticle إلى أعلى.

٧- اعمل سلخات للبشرة باستخدام الملقط وحملها على شريحة زجاجية وضع عليها قطرة من محلول السكروز ٠.٨ جزيئي ثم غط الشريحة بالغطاء مع مراعاة عدم دخول فقاعات هوائية.

٨- افحص تحت المجهر بالقوة الصغرى ثم بالقوة الكبرى ودون مشاهداتك في التقرير مع رسم طرز البلزمة أو تصويرها مجهرياً.

ثالثاً: دراسة البلزمة باستخدام محلول متأين

١- اعمل قطاعات مربعة كما سبق ولكن في البشرة الخارجية (تشريحياً تمثل البشرة السفلى) للأوراق الحرشفية لبصلة حمراء مستخدماً شفرة حادة على أن يكون طول ضلع مربعات القطاعات ٥ مم

٢- افصل هذه القطاعات بملقط وضعها في طبق بتري به كمية من محلول مُبَلزِم Plasmolyzing Solution يتكون من مركبين نترات البوتاسيوم ونترات الكالسيوم بتركيز ٠.٥ جزيئي وزني لكل منهما بنسبة ٩ : ١ وذلك لمدة دقيقة.

٣- اعمل سلخات في البشرة الحمراء اللون ثم حملها على شريحة مجهريه وضع قطرة من المحلول السابق ثم غطها بغطاء الشريحة.

٤- يحاط غطاء الشريحة بمحلول مطاطي Rubber Solution أو فازلين وذلك لعدم جفاف الخلايا وتبخر الماء الذي يؤدي إلى زيادة تركيز السكروز.

٥- افحص تحت المجهر باستخدام العدسات الشيئية الصغرى والكبرى ودون مشاهداتك مع الرسم، أو التصوير المجهري كما بالشكل رقم (٣٩ أ ، ب ، ج).

رابعاً: شفاء البلزمة Deplasmolysis

١- انقل بعض القطاعات التي سبق وضعها في المحلول المبلزم إلى طبق بتري نظيف به ماء صنبور عادي (غير مقطر). أو محلول سكروز ٤ ٪ لمدة دقائق قليلة.

٢- اعمل سلخات من تلك الأجزاء وحملها على شريحة مجهريه في ماء غير مقطر.

٣- افحص تحت المجهر ولاحظ ما مدى عودة الخلايا لطبيعتها وفي هذه الحالة يمكن حساب الوقت الذي يلزم لشفاء الخلايا من البلزمة.

علل ما يأتي

١- يستعمل محلول سكروز مخفف في تحضير قطاعات الأنسجة النباتية للتجارب الفسيولوجية.

٢- استخدام نسيج يحتوي على صبغة الأنثوسيانين لدراسة البلزمة.

٣- لا تحدث ظاهرة البلزمة طبيعياً.

٤- تشفى الخلايا من البلزمة عند وضعها في ماء غير مقطر.

٥- تظل الخلايا المبلزمة حية ولو تركت فترة طويلة في المحاليل فإنها تعود إلى وضعها الطبيعي.

٦- تنوع أشكال بلزمة الخلايا.

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 (١٧) : طريقة البلزمة لتحديد الجهد الأسموزي
Plasmolytic Method for the Determination of Osmotic Potentiol

مقدمـــة

تعتبر دراسة الجهد الكلي للماء خاصية مفيدة في العلاقات المائية للنبات فهي تعبير عن حالة الماء للنبات، وهي تمثل المجموع الجبري لمكونات جهد الماء الكلي في النبات. فجهد الماء في نظام سواء (خلية أو محلول) هو الجهد الكيميائي للماء النقي معدلاً لتلك القوي التي تؤثر في الطاقة الحرة لجزيئاته. ويقسم جهد الماء إلى ما يعتقد إلى مكوناته حسب شدة ت أثير القوة في الجهد وعليه فمكونات الجهد الكلي للماء Ψ_ω هي عبارة عن :

$$\Psi_\omega = \Psi_s + \Psi_P + \Psi_m + \Psi_g$$

حيث :

Ψ_s = الجهد الأسموزي (أحياناً تكتب Ψ_π) Osmotic potential

وهو ناجم عن وجود المواد الذائبة في سيتوبلازم وفجوة الخلية وهو سالب القيمة دائماً.

Ψ_p = جهد الامتلاء (جهد الضغط) Turgor potential

وهو ناجم عن تكوين الضغط الهيدروستاتيكي داخل الخلية نتيجة لدخول الماء إليها وهو غالباً ذو قيمة موجبة.

Ψ_m = جهد المادة (الجهد المادي)

وهو ناشئ عن وجود الغرويات في أجزاء الخلية سواء الجدار الخلوي أو السيتوبلازم وعضياته والفجوة وقيمة هذا المكون سالبة.

Ψ_g = جهد الجاذبية

وهو ناشئ عن ارتفاع النسيج عن مستوى سطح الأرض وهو ضئيل القيمة ويمكن إهماله.

لذا يمكن اختصار معادلة الجهد المائي الكلي للخلايا ذات الفجوات الكبيرة كما يلي:

$$\Psi_\omega = \Psi_s + \Psi_p$$

من جهة أخرى، يمكن تفسير نفس المعادلة بأنه عندما تكون الخلية في حالة بلزمة حدية Limiting plasmolysis فإن جهد الامتلاء Ψ_p لهذه الخلية يكون صفراً، وعليه فتحت ظروف وجود حالة اتزان مستقرة Steady state equilibrium فإنه يفترض وجود اتزان بين الجهد الاسموزي Ψ_s للمحلول الخارجي والعصير الخلوي كما بالمعادلة السابقة $\Psi_\omega = \Psi_s + \Psi_p$. وعند البلزمة الحدية تصبح قيمة Ψ_p للخلية مساوية للصفر فتصبح المعادلة $\Psi_\omega = \Psi_s$ للخلية وبما أن المحلول الخارجي ليس له ضغط Ψ_p فتصبح المعادلة $\Psi_\omega = \Psi_s$ للمحلول الخارجي أيضاً على ذلك فعند حدوث حالة اتزان مستقرة بين كل من الخلية والمحلول الخارجي فتصبح قيمة :

Ψ_ω للمحلول الخارجي = Ψ_s للخلية أي

Ψ_s للمحلول الخارجي = Ψ_s للخلية

وتهدف تجربة استخدام البلزمة لتحديد الجهد الاسموزي Ψ_s إلى إيجاد محلول خارجي يسبب انفصالاً طفيفاً للسيتوبلازم عن جدار الخلية وهي الحالة التي تعرف بالبلزمة الابتدائية Incipient plasmolysis ، ففكرة هذه التجربة هي تقدير البلزمة الحدية للنسيج وهي أن تصل نسبة الخلايا المبلزمة إلى ٥٠ ٪ من خلايا النسيج المفحوص.

وفي هذه التجربة يتم تحديد قيمة الجهد الأسموزي للخلايا في حالة البلزمة الحدية فقط لكنه يجب تصحيح هذه القيمة لمعرفة الجهد الاسموزي للخلايا في حالتها الطبيعية وهي ممتلئة نسبياً لذلك يستخدم المعامل التالي :

$$\frac{\text{حجم الخلية وهي في حالتها الطبيعية}}{\text{حجم الخلية وهي في البلزمة الحدية}} = ١,٠٥$$

المواد والأدوات اللازمة

١- حضر التركيزات التالية من السكروز قبل بدء التجربة :

٠,١٠ ، ٠,١٥ ، ٠,٢٠ ، ٠,٢٥ ، ٠,٣٠ ، ٠,٣٥ ، ٠,٤٠ ، ٠,٤٥ ، ٠,٥٠ ، ٠,٥٥ ، ٠,٦٠ جزيئي وزني. ولكيفية تحضير هذه التركيزات بدقة راجع الملحق رقم (٧).

٢- قواعد الأوراق المتشحمة لنبات البصل *Allium cepa*

٣- أنابيب زجاجية ذات فتحات واسعة وسعة ٣٠ مل.

٤- ملاقط حادة منحنية الأطراف لتسهيل تحضير السلخات.

٥- قطارات Droppers (زجاجية أو بلاستيكية).

٦- مجهر ضوئي (ويكون من الأفضل أن يلحق به كاميرا) لتصوير الخلايا في الحالة الطبيعية وفي حالة البلزمة وفي حالة الشفاء من البلزمة.

٧- شرائح مجهرية وأغطيتها Cover slides

٨- أوراق رسم بياني

طريقة العمل

١- باستخدام شفرة حادة اعمل قطاعات مربعة الشكل من القواعد المتشحمة لأوراق البصل بأبعاد ٣ × ٣ مم

٢- انقل هذه القطاعات إلى أنابيب تحتوي على ٢٠ مل من تركيزات السكروز المختلفة والمحضرة سابقاً، بمعدل ٣ قطع من البصل في كل أنبوبة، كما بالشكل رقم (٤٠).

الشكل رقم (٤٠). يوضح أنابيب تحتوي على تركيزات متصاعدة من محلول السكروز تستخدم في تجربة البلزمة لتحديد الجهد الأسموزي.

ملاحظة : (ممكن تقسيم الطلاب إلى مجموعات، تختص كل مجموعة بعدد معين من التركيزات، وتجمع النتائج بمعرفة مشرف العملي).

٣-اترك تلك العينات في تراكيز السكروز السابقة لمدة نصف ساعة حتى تصل الأنسجة إلى حالة اتزان Equilibrium .

٤-اعمل سلخات رقيقة من هذه القطع باستخدام الملقط المدبب وضعها على الشريحة بحيث تكون طبقة الأدمة لأعلى ثم افرد السلخة بحرص وبسرعة وضع عليها قطرات من محلول السكروز ومن نفس التركيز الذي تنتمي إليه العينة ثم قم بتغطية الشريحة بالغطاء الزجاجي واحرص على عدم دخول فقاعات هوائية. أضف زيت برافين حول الغطاء حتى تمنع جفاف محلول السكروز مما يؤدي إلى رفع تركيزه.

٥-اكتب على الشريحة نفسها تركيز السكروز الذي استخدمته حتى لا تختلط العينات.

٦-افحص النسيج بالقوة الصغرى ثم القوة الكبرى للمجهر واستبعد السلخات التي لم تتبلزم أو التي تبلزم نسيجها بشدة.

٧-افحص ١٠٠ خلية في كل تركيز من تركيزات محاليل السكروز المستخدمة مع مراعاة عدم تدخل الحقول المجهرية حتى تتجنب عد نفس الخلية أكثر من مرة.

٨-احسب النسبة المئوية للخلايا المبلزمة إلى نسبة العدد الكلي من الخلايا المفحوصة. وسجلها في جدول.

٩-سجل النتائج على رسم بياني إحداثيه الأفقي يبين درجة التركيز والإحداثي الرأسي يبين النسبة المئوية للخلايا المبلزمة.

١٠- من منحنى العلاقة السابق حدد تركيز محلول السكروز (جزيئي وزني) والذي عنده تكون ٥٠ ٪ من الخلايا في حالة البلزمة وهي ماتعرف الحالة هنا بالبلزمة الحدية.

١١- بتطبيق المعادلة السابقة $\Psi_\omega = \Psi_s + \Psi_p$ ، وكما سبق الشرح فعند البلزمة الحدية تكون قيمة Ψ_p للخلية = صفر

فعليه نجد أن : جهد الماء = الجهد الأسموزي

١٢- ممكن باستخدام الملحق رقم (٧) لتوضيح قيم الجهد الأسموزي المقابلة للتركيزات المختلفة لمحاليل السكروز التي استخدمت في التجربة.

١٣- ممكن الاستغناء عن الجدول وحساب قيمة الجهد الأسموزي لخلايا النسيج تحت الدراسة باستخدام معادلة فانت هوف Van't Hoff

$$\Psi_s = - miRT$$

حيث إن Ψ_s هي قيمة الجهد الأسموزي للخلايا وتقدر بالبار bar وقيمتها سالبة حيث هذا يدل على مقدار النقص في جهد المذيب (الماء) نتيجة لوجود المذاب.

m = التركيز بالمولار (جزيئي وزني).

i = ثابت التأين وهو للسكروز = ١

R = ثابت الغازات ويساوي ٨٢,٠٦ سم^٣ ضغط جوي / درجة / جزئ جرامي.

T = درجة الحرارة المطلقة = ٢٧٣ + درجة الحرارة المئوية (٢٥ °) مثلاً.

= ٢٩٨ درجة مطلقة (كالفن).

∴ عند التركيز ٠,٥ (جزيئي وزني) يكون الجهد الأسموزي للخلية عند البلزمة الحدية

= - ٠,٥ × ٠,٠٨٢٠٦ × ٢٩٨ = - ١٢,٢ بار

أي الجهد الأسموزي للخلية = - ١٢,٢ ضغط جوي.

دون في تقريرك الإجابة على تلك الأسئلة :

١- احسب الجهد الأسموزي للخلية باستخدام تجربة محاليل السكروز ذات التركيزات المختلفة في حالة البلزمة الحدية وقارن بينها وبين القيمة الناتجة من معادلة فانت هوف.

٢- اشرح مزايا وعيوب طريقة البلزمة المستخدمة في تحديد الجهد الأسموزي Ψ_s.

٣- قم بتصحيح قيمة الجهد الأسموزي للخلايا في حالة البلزمة الحدية لمعرفة الجهد الأسموزي للخلايا وهي في حالتها الطبيعية أي الممتلئة نسبياً.

٤- إذا كان الجهد الأسموزي لمحلول هو — ١٠ ضغط جوي وذلك عند درجة حرارة ٢٠ °م فما هو جهده الأسموزي عند درجة ٢٥ °م.

(انظر ملحق رقم (٨) لحساب جهد الماء الكلي لمحلول كلوريد الصوديوم (- جول/كجم= ٠,٠٠١ ميجاباسكال) عند درجات حرارة مختلفة.

٥- علل : لماذا يحاط غطاء الشريحة بالمحلول المطاطي أو زيت البرافين في التجربة السابقة ؟

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 (١٨): تقدير الجهـــد المائي Water Potential للخـــلية بتقدير تغير حجم أو وزن النسيج النباتي

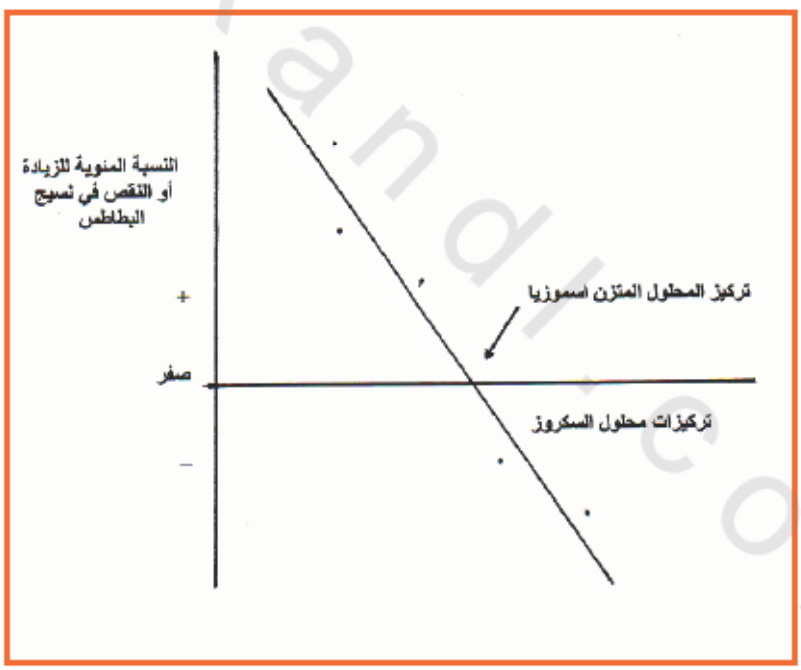
مقدمـــة

من الطرق التي تعتمد على اتزان النسيج مع السوائل لتقدير جهد الماء الكلي، طريقة التغير في الوزن أو الحجم أو الطول، وهي طريقة معملية حيث يوضع النسيج النباتي في محاليل متدرجة في الجهد الكلي وأول من استعملها هاير ووالاس عام ١٩٤١ وتحضر المحاليل معملياً مع مركبات خافضة للجهد الأسمـوزي (Osmoticum) مثل السكروز أو المانيتول، ومن الأفضل أن تكون من مركبات مصنعة مثل جلايكول عديد الإيثيلين (Polyethylene glycol) ويرمز له (PEG) ؛ لأنها أقل عبوراً للأغشية الخلوية في الأنسجة، وبالتالي لا يكون لأيض الخلايا تأثيراً يذكر. والمعروف أن الجهد الكلي للمحاليل الخارجية والمعرضة لضغط جوي واحد، يعادل الجهد الأسموزي الذي يمكن تقديره باستخدام معادلة فانت هوف سابقة الذكر. وعند التعادل إما أن يقل وزن الأنسجة أو حجمها أو طولها أو لا يتغير، أو يزداد حسب فروق الجهد بينها وبين الوسط الخارجي. وبتقدير قيم التغير في خاصية النسيج ورسم العلاقة مع جهد الماء الكلي في المحلول الخارجي يتقاطع المنحني مع الصفر (أي نقطة عدم حدوث تغير في خاصية النسيج) كما بالشكل رقم (٤١).

لذلك تجرى عملية وزن الأنسجة النباتية قبل وضعها في محاليل سكروز ذات تراكيز مختلفة وتترك فيها لفترة زمنية تخرج بعدها وتنشف بورق ترشيح لامتصاص المحلول الخارجي الزائد ثم توزن ثانية لمعرفة مقدار الزيادة في الوزن (نتيجة امتصاصها الماء من المحلول ناقص الأسموزية) أو النقص في الوزن ؛ (نتيجة لفقدها الماء في المحلول زائد الأسموزية).

ويمتاز المحلول المتزن إسموزياً بعدم حدوث تغير في الوزن. أي الجهد المائي للنسيج هو الجهد المائي للمحلول الذي لم يطرأ على النسيج الموضوع فيه أي تغيير.

وكما سبق يمكن عمل رسم بياني للعلاقة مابين قيم التغير أو النسب المئوية للزيادة أو النقص (الإحداثي الرأسي) وبين التركيزات المختلفة (الإحداثي الأفقي) وتوضح العلاقة بخط مستقيم. ثم تحدد نقطة تقاطع هذا الخط المستقيم مع الاحداثي الأفقي وهي تعادل تركيز المحلول المتزن إسموزياً مع خلايا ذلك النسيج النباتي، (انظر الشكل رقم ٤١).



الشكل رقم (٤١). يوضح كيفية تحديد تركيز المحلول المتزن اسموزيا مع النسيج النباتي بناء على العلاقة بين النسب المئوية للتغير في أوزان النسيج النباتي وبين تركيـــزات محلول السكروز.

المواد والأدوات اللازمة

١- درنات بطاطس طازجة (أو جزر أو فجل).

٢- ثاقب فليني Cork porer ، (انظر شكل رقم ٤٣ ، أ).

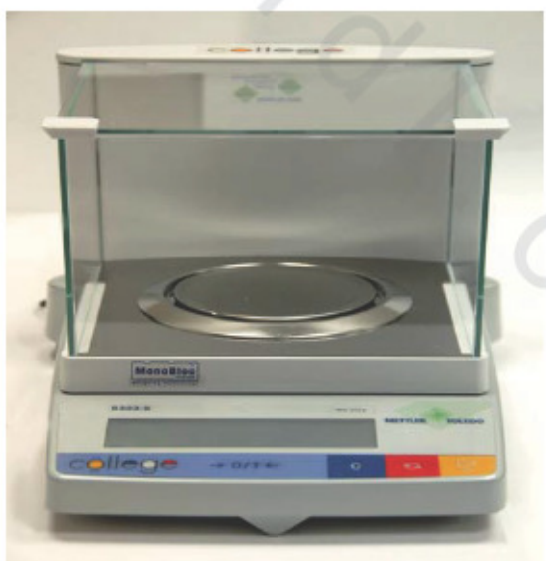
٣- محلول سكروز تركيزه واحد جزئيي وزني يحضر منه محاليل مختلفة من التركيزات: (٠,١٥ ، ٠,٢٠ ، ٠,٢٥ ، ٠,٣٠ ، ٠,٣٥ ، ٠,٤٠ ، ٠,٤٥ ، ٠,٥٠ جزيئي وزني).

٤- أطباق بتري.

٥- أوراق ترشيح .

٦- ماصات سعة ١٠ مل.

٧- ميزان رقمي (دقيق) Digital balance ، (انظر الشكل رقم ٤٢).



الشكل رقم (٤٢). يوضح الميزان الرقمي Digital balance لدراسة الجهد المائي للخلية بتقدير تغير وزن النسيج النباتي.

٨- أمواس حادة أو مشرط .

٩- ماء مقطر .

١٠- ملاقط بلاستيك .

طريقة العمل

١- حضر محاليل مختلفة التراكيز من محلول السكروز (تركيزه الأصلي ١ مولار) ٠,١٥ ، ٠,٢٠ ، ٠,٢٥ ، ٠,٣٠ ، ٠,٣٥ ، ٠,٤٠ ، ٠,٤٥ ، ٠,٥٠ مولار أوجزيئي جرامي.

٢- ضع هذه التراكيز في أطباق بتري زجاجية بغطاء مع مراعاة الدقة في كتابة تركيز المحلول على كل طبق.

٣- باستخدام الثاقب الفليني حضر قطع إسطوانية من درنات البطاطس أو الجزر أو الفجل.

٤- قسم هذه القطع الإسطوانية الطويلة إلى أجزاء (أقراص) سمكها ٣ — ٥مم باستخدام الموس أو المشرط حتى تكون أوزانها متساوية تقريباً، (انظر شكل رقم ٤٣، ب).

٥- باستخدام الملقط البلاستيك انقل القطع الاسطوانية الرقيقة (الأقراص) على ورق ترشيح وذلك ؛ لتجفيفها من الماء والعصير الموجود على سطح العينة.

٦- زن كل قطعة اسطوانية رقيقة ولتكن واحد جرام مثلاً باستخدام الميزان وبالملقط البلاستيك ضعها في الطبق البتري واغمرها داخل المحلول مع كتابة الوزن والوقت على الطبق بالإضافة إلى تركيز محلول السكروز المدون سابقاً على الطبق البتري.

٧- كرر هذا مع بقية العينات وبقية التراكيز.

الشكل رقم (٤٣). أ) يوضح الثاقب الفليني. ب) طريقة تحضير القطع الاسطوانية من درنات البطاطس بالثاقب الفليني وذلك لتقدر الجهد المائي للخلية بتغير وزن النسيج النباتي.

obeikandi.com

٨- اترك عينات البطاطس في كل تركيز لمدة نصف ساعة محسوبة لكل معاملة على حدى بحسابها من واقع زمن البداية.

٩- بعد مضي الوقت انقل العينات إلى ورق الترشيح ثم تقلب على الوجهين بالملقط البلاستيك للتخلص من المحلول الزائد على السطح مع عدم الضغط عليها نهائياً.

١٠- زن كل عينة وسجل الوزن الجديد لها ثم احسب الفرق في الوزن سواء بالزيادة أو بالنقص.

١١- احسب النسبة المئوية للفروق في الأوزان منسوبة إلى وزن النسيج أو العينة الأصلي.

١٢- مَثِّلْ هذه النتائج بيانيا كما سبق شرحه مراعياً وضع التركيزات المختلفة على الإحداثي الأفقي وفروق الأوزان أو النسب المئوية لها على المحور الرأسي.

١٣- استنتج تركيز المحلول المتزن من تقاطع المنحنى مع المحور الأفقي ثم احسب الجهد الأسموزي.

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 (١٩) : طريقة تدرج الكثافة النسبية لتقدير الجهد الأسموزي
Osmotic Potential

مقدمـــة

لتوضيح قاعدة الاتزان بين الخلايا أو النسيج من جهة والوسط الخارجي من جهة أخرى، فعند استخدام محاليل متدرجة في التركيز Gradient مع مادة لا تنفذ عبر الغشاء الخلوي ووضع عينات متجانسة في كل منهم فإن بعض العينات تمتص الماء والبعض الآخر يفقد جزءاً من محتواه المائي وعينات ثالثة لا تتغير وذلك تبعاً لفروق جهد الماء بين الخلايا أو الأنسجة من جهة والوسط الخارجي من جهة أخرى، من هنا يمكن تحديد المحلول الذي جهده يعادل الجهد في العينة وهو ما يطلق عليه بالمحلول المتعادل Isopiestic or isobaric solution . وعملياً قد لا يكون هذا المحلول ضمن سلسلة المحاليل المتدرجة في التركيز لذا فيستعان بالتقدير بأن ذلك المحلول يقع تركيزه بين تركيزين معينين متتاليين ويؤخذ متوسطهما كقيمة تقديرية أو يستعان برسم العلاقة البيانية ومعرفة التركيز من تقاطع المنحنى البياني مع المحور الأفقي كما سبق شرحه في التجربة السابقة.

وتتلخص طريقة تدرج الكثافة النسبي بأخذ قطاعات من النسيج متجانسة وغمرها في عدد من المحاليل المتدرجة في التراكيز وتركها تتعادل مع المحلول ومن ثم تؤخذ هذه القطاعات بعد وقت زمني معين وتوضع في مخبار مدرج به محاليل من التركيزات السابقة على هيئة طبقات بحيث يكون أعلى تركيز في قاع المخبار.

سيتعلق القطاع في الزمن المحدد – لكل القطاعات – في تركيز المحلول الذي اتزن معه قبل وضعه في المخبار. وترسم العلاقة بين ارتفاع القطاعات في المحلول المتدرج التركيز مع تركيز المحلول ويتم التوصل إلى منحنى مشابه للمنحنى، كما بالشكل رقم

(٤٤).تكون نقطة البلزمة الحدية هي نقطة انخفاض الخط المستقيم للعلاقة ومنها يحدد تركيز المحلول الخارجي ويوجد جهده الأسموزي الذي يساوي الجهد الأسموزي للنسيج.

وفي طريقة تدرج الكثافة النسبية لتقدير الجهد الأسموزي فالهدف هو إيجاد محلول خارجي يحدث البلزمة الابتدائية Incipient plasmolysis عند استخدام نسيج نباتي.

المواد والأدوات اللازمة

١- أغماد بادرات قمح أو شعير منبته في الفيرماكيولايت Vermiculite بالظلام لمدة خمسة أيام (ويمكن الاستعاضة عنها باستخدام درنات البطاطس).

٢- يحضر ٢ لتر من محلول سكروز أساسي (واحد جزيئي) في دورقين منفصلين، بحيث يذاب ٣٤٣ جرام من السكروز ($C_{12}\ H_{23}\ O_{11}$). في لتر واحد من الماء المقطر، ثم وزن مماثل في لتر ماء مقطر آخر.

٣- مخبار مدرج سعة ١٠٠ مل وماصات سعة ١٠ مل.

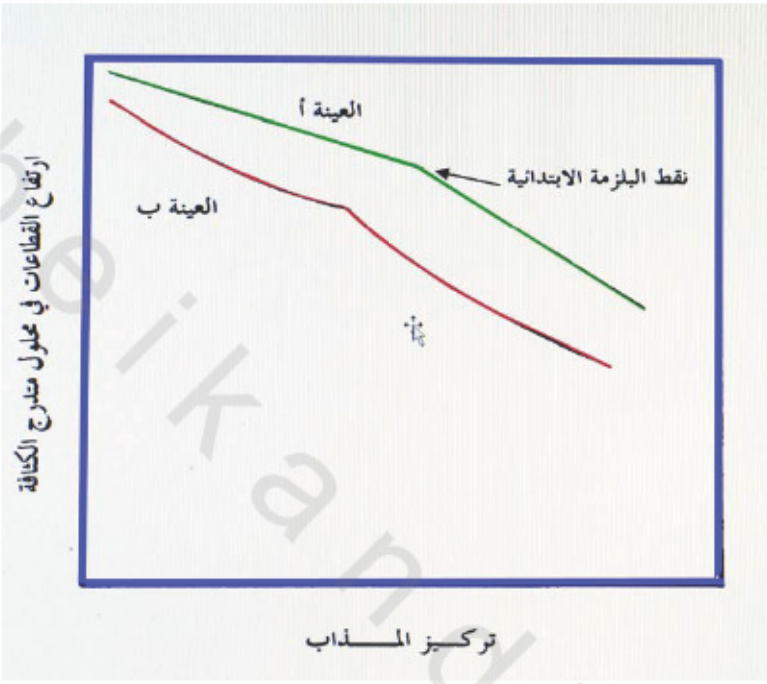
٤- ساعة توقيت Timer .

٥- إبرة تشريح مستقيمة وأخرى معكوفة وملاقط.

٦- ثاقب فليني (في حالة استخدام درنات البطاطس). أمواس أو مشارط حادة.

٧- عدد ١١ وحدة من كل من (أنابيب اختبار، طبق بتري، كؤوس ٥٠٠مل).

٨- صبغة الأحمر المتعادل Neutral Red أو صفرانين Safranin أو أزرق المثيلين Methylene Blue.



الشكل رقم (٤٤). رسم بياني للعلاقة بين تركيز المذاب وارتفاع القطاع في محلول تدرج الكثافة يوضح نقطة البلزمة الابتدائية ومنها يوجد الجهد الأسموزي للنسيج.

طريقة العمل

١- من محلول السكروز الأساسي، اجري عملية التخفيف بالماء المقطر لتحصل على التركيزات التالية: ١(جزيئي وزني)، ٠,٩ ، ٠,٨ ، ٠,٧ ، ٠,٦ ، ٠,٥ ، ٠,٤ ، ٠,٣ ، ٠,٢ ، ٠,١ ، صفر (ماء مقطر).

٢- انزع البادرات من الفيرماكيولايت بفصل البادرات من عند سطح التربة، ثم افصل جزء طوله ٥ مم من عند القمة واستبعده.

٣- اعمل قطاعات متساوية (في حدود ٢ مم) بموس حاد من الجزء المتبقي، مع مراعاة إخراج أجزاء الورقة الأولى من داخل الغمد. ضع فوراً هذه القطاعات في ماء مقطر حتى لا تجف.

٤- ضع هذه القطاعات في أطباق بتري تحتوي على تخفيفات محلول السكروز الأساسي مأخوذة من الدورق الأول، وبمعدل ٣ قطاعات في كل طبق (أي نحتاج إلى ٣٣ قطاع في الأطباق الإحدى عشر) وذلك لمدة ٣٠ دقيقة.

٥- حضر مجموعة المحاليل المتدرجة الكثافة من الدورق الثاني كما يلي :

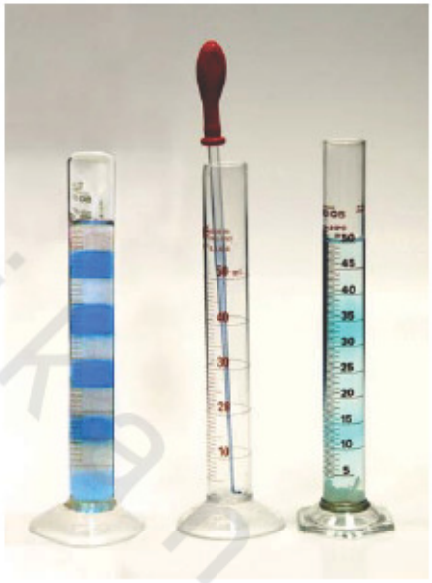
أ) استخدم الإحدى عشر أنبوبة اختبار. وذلك بوضع ١٠ مل من محلول السكروز الأساسي (واحد جزيئي) في أحد الأنابيب ثم أضف إليه قطرة قليلة جداً من صبغة الأحمر المتعادل وأفرغها في أحد الكؤوس مع التحريك للتأكد من تجانس الصبغة بالمحلول.

ب) خذ ١٠ مل أخرى من التركيز التالي وهو ٠,٩ وضعها في الكأس رقم اثنين ولكن لاحظ هنا أن تكون بدون الصبغة.

ج) خذ ١٠ مل من التركيز ٠,٨ وضعها في الكأس مع إضافة قطرة قليلة جداً من الصبغة والتحريك.

د) كرر هذه العملية مع بقية التراكيز بحيث يصبح لديك تركيز ما ملون والذي يليه غير ملون مع مراعاة الدقة في تعليم الكؤوس وترقيمها.

٦- انقل ١٠ مل من محلول السكروز الأساسي (الملون) إلى قاع المخبار المدرج وذلك باستخدام الماصة (١٠ مل) مع مراعاة أن يكون طرف الماصة ملاصق لجدار المخبار وتتم عملية النقل والانسياب ببطء جداً، (انظر شكل رقم ٤٥).



الشكل رقم (٤٥). يوضح طريقة تدرج الكثافة النسبية لمحاليل السكروز المختلفة لتقدير الجهد الأسموزي للخلية.

٧- انقل ١٠ مل من محلول السكروز ٠,٩ (والغير ملون) إلى المخبار بنفس الطريقة السابقة ـ يجب عدم تحريك المخبار أو هزه حتى لا تمتزج المحاليل الملونة مع غير الملونة.

٨- انقل ١٠ مل من محلول السكروز ٠,٨ (الملون) إلى المخبار بنفس الطريقة.

٩- انقل بقية التراكيز بنفس الطريقة مع عدم هز المخبار حتى تصل إلى أقل تركيز وهو الماء المقطر والذي سيكون في هذه الحالة في الطبقة العليا. لاحظ وجود تدرج المحاليل بحيث طبقة ملونة وأخرى غير ملونة.

١٠- نعود مرة أخرى إلى القطاعات والمحاليل بالمجموعة الأولى، فبعد مضي نصف ساعة على تحضين القطاعات، قم بأخذ قطاع بطرف الإبرة المعكوفة من الطبق البتري الأول والذي يحوى محلول السكروز (١ جزيئي وزن) وبحرص شديد اتركها على سطح الطبقة العلوية من المحاليل (الماء المقطر) بالمخبار.

١١- باستخدام ساعة التوقيت ولمدة ٦٠ ثانية تماماً، حدد موقع القطاع بقياس المسافة التي تحركها من سطح المخبار حتى انتهاء فترة الدقيقة تماماً.

١٢- كرر نفس الطريقة للقطاعين الثاني والثالث من نفس طبق البتري أي من نفس التركيز، ثم احسب متوسط المسافات الثلاثة.

١٣- قم بعمل نفس الخطوات مع بقية القطاعات بالأطباق البتري (أي بقية التركيزات) بحيث يصبح لديك إحدى عشرة قراءة.

١٤- دون نتائج التجربة في جدول يحتوي على ثلاثة أعمدة، واحد لتركيز المحلول والآخر للجهد الأسموزي (المحسوب) والثالث لمتوسط ارتفاع القطاع بالمخبار كما بالجدول التالي.

١٥- ارسم العلاقة بيانياً على ورق رسم بياني، بين ارتفاع القطاعات في المحلول المتدرج الكثافة وبين تراكيز المحاليل المختلفة.

١٦- حدد كل من البلزمة الابتدائية والجهد الأسموزي للنسيج.

جدول يوضح علاقة تركيز محلول السكروز وارتفاع قطاعات درنة البطاطس.

التركيز	الجهد الاسموزي (المحسوب)	ارتفاع القطاعات (مم)
١ جزيئي وزني		
٠,٩		

تابع الجدول .

التركيز	الجهد الاسموزي (المحسوب)	ارتفاع القطاعات (مم)
٠,٨		
٠,٧		
٠,٦		
٠,٥		
٠,٤		
٠,٣		
٠,٢		
٠,١		
صفر (ماء مقطر)		

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 (٢٠): طريقة شارداكوف أو الصبغة لقياس جهد الماء

Chardakov or Dye Method for Water Potential Measurment

مقدمـــة

طريقة الصبغة من الطرق المبنية على تغير خواص المحلول أو بمعنى آخر تغير في كثافة المحلول الخارجي بعد وضع نسيج نباتي فيه وهي طريقة يمكن استخدامها في الحقل لتقدير الجهد الكلي للنسيج (كالأوراق). ويحدث هذا التغير في كثافة المحاليل ؛ كنتيجة لامتصاص الماء بواسطة النسيج أو خروج الماء من النسيج حسب جهد الماء فيه ، لذلك يمكن الوصول إلى محلول لا يحدث فيه هذا التغير وهو المحلول المتزن إسموزياً مع افتراض أنه لا يحدث امتصاص أو فقد للمواد الذائبة بواسطة النسيج خلال التجربة. طريقة التغير في كثافة المحلول بعد وضع النسيج النباتي فيه تعتبر من أكثر الطرق شيوعاً وهذه الطريقة تنسب إلى العالم الروسي شارداكوف عام ١٩٥٣م. في هذه الطريقة تحضر محاليل متدرجة في التركيز ويقسم كل محلول إلى قسمين وتوضع في أنابيب اختبار حيث تكون مجموعتين ويوضع في كل أنبوبة من مجموعة واحدة بلورة من أزرق الميثيلين لتلوينه ويوضع في المجموعة الأخرى عينات من النسيج النباتي وبعد فترة ٣٠ دقيقة ، تستخرج العينات ثم تؤخذ قطرة من المحلول المقابل الملون بواسطة قطارة أو أنبوبة شعرية مسحوبة وتوضع في وسط السائل المقابل فإن طفت القطرة دلَّ ذلك على أن المحلول أصبح ذا كثافة أكبر أي أن النسيج امتص جزءاً من الماء وإن غطست القطرة إلى القاع دل ذلك على أن المحلول أصبح ذا كثافة أقل أي أن النسيج فقد جزءاً من مائه وإن بقيت القطرة في مكانها منتشرة انتشاراً متساوياً دل ذلك على أن الكثافة لم تتغير وأن جهد الماء في النسيج يساوي جهد الماء في المحلول الذي بأنبوبة

الاختبار. يلاحظ كذلك أنه من الأفضل جعل طرف الأنبوبة الشعرية التي تستعمل كقطارة منحنية بزاوية قدرها حوالي ٩٠ ° لكي لا يحدث تأثير رأسي لحركة القطرة عند خروجها إلى المحلول.

أحياناً لا يمكن الحصول على محلول متعادل (أي الوصول إلى تعلق القطرة وانتشارها) في غالبية التجارب إما أن تطفو القطرة وإما أن تغطس لذا يؤخذ متوسط المحلولين المتدرجين في التركيز واللذين في أحدهما تطفو القطرة وفي الآخر تغطس.

المواد والأدوات اللازمة

١- درنة بطاطس كبيرة.

٢- محلول من السكروز (١ جزيئي وزني).

٣- عدد ١٥ أنبوبة اختبار سعة ٣٠ مل.

٤- ثاقب فليني بقطر ١ سم، ومشرط حاد عريض.

٥- ماصات باستير Pasteur Pipette منحنية الطرف بزاوية ٩٠ ° ، (انظر شكل رقم ٤٦).

٦- ماصات مدرجة سعة ١٠مل، ٢٠مل.

٧- مخبار مدرج سعة ٢٠٠مل.

٨- كأس زجاجي Beaker سعة ٢٠٠مل.

٩- إبر تشريح وملاقط وترمومتر وأقلام شمع.

١٠- صبغة أزرق الميثيلين Methylene blue .

الشكل رقم (٤٦). يوضح ماصة باستير وماصة بلاستيك مطاطية لزوم تجارب قياس الجهد المائي للخلية.

طريقة العمل

١- خذ ثلاث مجموعات من أنابيب الاختبار (أ ، ب ، ج) كل مجموعة تتكون من خمسة أنابيب ودون عليها بقلم الشمع التركيزات التالية: ٠,١٥ ، ٠,٢٠ ، ٠,٢٥ ، ٠,٣٠ ، ٠,٣٥ (انظر شكل رقم ٤٧).

٢- استعمل الماصة المدرجة في تحضير ٢٠مل لكل تركيز على حدة من محلول السكروز (واحد جزيئي وزني) في المخبار المدرج ثم قسم المحلول الناتج بين أنابيب الاختبار في المجموعتين أ ، ب بحيث يكون في كل أنبوبة اختبار ١٠مل من المحلول حسب التركيز المعلم على أنبوبة الاختبار.

obeikandl.com

٣- مستخدماً ثاقب الفلين استخرج اسطوانات من نسيج البطاطس ثم بالمشرط العريض حضر ١٥ قطاع متساوية الطول والقطر تماماً بطول ٤ سم (طبعاً القطر ثابت ١سم)، ثم ضعهم في الكأس الزجاجي Beaker وقم بتغطيته بزجاجة ساعة لتقليل فقد الماء الناتج عن البخر.

الشكل رقم (٤٧). يوضح أنابيب تحتوي على تركيزات مختلفة من محلول السكروز لتجربة شارداكوف أو الصبغة لقياس جهد الماء.

٤- ضع في كل أنبوبة من المجموعة أ ثلاث قطع من العينات التي أعدتها في الخطوة السابقة واتركها في المحلول لمدة نصف ساعة.

٥- ضع كمية قليلة جداً من مسحوق صبغة أزرق الميثيلين على طرف إبرة التشريح في أنابيب الاختبار الخمسة المكونة للمجموعة بـ (يجب مراعاة غسل طرف الإبرة بماء مقطر كل مرة حتى لا يزيد تركيز الصبغة عند استعمالها للأنابيب الأخرى).

٦- بعد مضي النصف ساعة انقل المحاليل الموجودة في الأنابيب المكونة للمجموعة أ للمماثل لها في أنابيب المجموعة ج مع ترك النسيج النباتي كما هو في أنابيب المجموعة أ .

٧- خذ قطرة من أحد المحاليل وليكن الأول (تركيز ٠,١٥ جزيئي وزني). والملون بصبغة أزرق الميثيلين (من مجموعة ب) وذلك باستخدام ماصة باستير المنحنية الطرف، ثم ادخلها برفق وحذر شديد إلى منتصف الأنبوبة (٠,١٥) من المجموعة ج غير الملونة، ثم اجعل تلك القطرة تخرج من فوهة الماصة إلى منتصف المحلول.

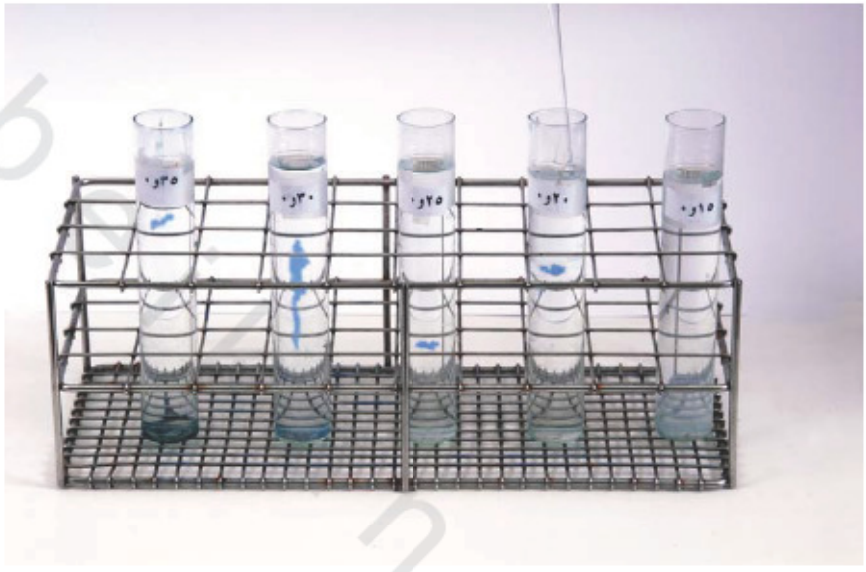
هناك ثلاث حالات لتلك القطرة الملونة، فهي إما أن تهبط لأسفل أو تصعد لأعلى أو أنها تظل مكانها بوسط الأنبوبة تقريباً وتنتشر بسرعة بعد ذلك. يجب ملاحظة سرعة انتشارها مع مراعاة عدم اهتزاز الماصة وعدم تحريك الأنبوبة.

٨- كرر ذلك مع بقية التراكيز الباقية ٠,٢٠ ، ٠,٢٥ ، ٠,٣٠ ، ٠,٣٥ مع مراعاة استخدام ماصات نظيفة لكل تركيز. لاحظ بدقة في أي منهم لم تتغير وضع القطرة الملونة في المحلول أو تنتشر، (انظر الشكل رقم ٤٨).

١٠- في حالة انتشار القطرة من تركيز ما، حدد تركيز هذا المحلول (جزيئي وزني) والذي تنتشر فيه القطرة الملونة، يعد هذا المحلول مساوياً في كثافته للمحلول الذي وضع به النسيج، معنى ذلك أن هذا النسيج لم يفقد ولم يمتص ماء وبذلك فالجهد الكلي لهذا المحلول يساوي الجهد الكلي للنسيج.

يمكن تحديد الجهد الأسموزي بالاستعانة بتركيز المحلول المحدد من التجربة، وذلك باستخدام الملحق رقم (٧) إن لم يكن هذا فممكن استخدام معادلة فانت هوف والتي سبق شرحها لتحديد الجهد المائي للنسيج.

دون النتائج في جدول والمشاهدات بدقة في التقرير المرفق.



الشكل رقم (٤٨). يوضح كيفية إضافة قطرات من تركيزات السكروز الملونة إلى أنابيب تحتوي على نفس التركيزات الغير ملونة باستخدام ماصة باستير في تجربة شارداكوف لقياس جهد الماء بالخلية.

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 (٢١) : دراسة العوامل المؤثرة على نفاذية الأغشية الخلوية
Factors Affecting Cell Membrane Permeability

مقدمة

يمتص النبات النامي من الوسط الخارجي بعض المواد الذائبة في الماء ويستفيد منها في نموه وفي القيام بوظائفه الحيوية، وامتصاص المواد الذائبة غير مرتبط بامتصاص الماء، فكل منهما يتجه إلى حالة اتزان خاصة به. وقد استعمل مصطلح النفاذية Permeability للدلالة على مدى سماح أغشية الخلية لجزيئات أو أيونات المواد بالمرور خلالها. فمن المعروف أنه بينما يسمح الجدار الخلوي غالباً ـ وليس دائماً ـ بمرور الماء والأملاح الذائبة خلاله، فإن الأغشية البلازمية تسمح للماء وبعض المواد الذائبة بالمرور خلالها وتعوق أو تمنع نفاذ بعضها الآخر أي أن الأغشية البلازمية تتميز بخاصية النفاذية الاختيارية Selective Permeability. معروف أنه يحيط بالسيتوبلازم غشاء بلازمي Ectoplast ويكون هذا الغشاء للداخل مباشرة من جدار الخلية، كما يوجد غشاء آخر يحيط بالسيتوبلازم المجاور للفجوة العصارية يسمى تونوبلاست Tonoplast ولهذه الأغشية أهمية كبرى لكل من العضيات والسيتوبلازم والفجوة العصارية حيث إنه لكل منها وظيفة خاصة وإن الغشاء الذي يحيط بكل منها يساعدها على الاحتفاظ بخصائصها عن طريقة خاصية النفاذية الاختيارية التي تختص بها الأغشية الخلوية المختلفة.

ويتحكم في تلك الأغشية عدة عوامل تؤثر في نفاذية الجزيئات أو الأيونات، ومن أهم هذه العوامل: درجة الحرارة، والتجمد، والضوء، والمذيبات العضوية، ثم المواد الذائبة في بيئة النبات.فلدراسة درجة الحرارة وتأثيرها على الأغشية البلازمية لخلايا جذر نبات البنجر *Beta vulgaris* حيث تحتوي الفجوات العصارية للخلايا على صبغة الأنثوسيانين Anthocyanin ـ أو صبغة البيتانين Betanin والتي تذوب في الماء،

فتظل الخلايا محتفظة بهذه الصبغة طالما يقوم الغشاء الاختياري النفاذية المحيط بالفجوة العصارية (التونوبلاست) بمنع خروج هذه الصبغة. لا تنفذ هذه الصبغة إلا بعد أن يفقد الغشاء خواصه وقدرته على التحكم في عدم خروجها، وهذا يتوقف على درجة الحرارة، فتزداد نفاذية الخلايا النباتية بارتفاع درجة الحرارة في المدى من صفر - ٥٠ °م، ولكن قد تكون الزيادة في النفاذية عكسية بمعنى أنها تعود إلى حالاتها الطبيعية بزوال المؤثر (الحرارة)، ولكن إذا جاوزت درجة الحرارة ذلك المدى فقد بروتوبلازم الخلية حيويته ومن ثم يفقد تحكمه في نفاذيته للمواد. والطريقة التي تؤثر بها درجة الحرارة في النفاذية غير معروفة على وجه التحديد. فقد يكون هذا التأثير راجعاً - ولو جزئياً - إلى تغيرات في طبيعة البروتوبلازم، كانخفاض اللزوجة الذي يصحب ارتفاع درجة الحرارة، كذلك يزداد النشاط الحركي للدقائق التي تمر خلال الأغشية البلازمية بارتفاع درجة الحرارة، وهذا يؤدي إلى زيادة واضحة في نفاذية الخلية. أو يرجع ذلك إلى تأثير درجة الحرارة المرتفعة في التركيب الكيميائي للغشاء نفسه بتأثيرها في الفوسفوليبيدات المكونة له.

ولدرجات الحرارة المنخفضة (التجمد) والتي تؤدي إلى تكوين الصقيع بالأنسجة النباتية، تأثير في النفاذية يماثل درجات الحرارة المرتفعة أي أنها تسبب زيادتها زيادة غير عكسية. ولا يعزى هذا التأثير إلى تمزق الخلايا - نتيجة لتكوين الثلج - كما يتبادر إلى الذهن، ولكن إلى تأثير الثلج في إتلاف حالة البروتوبلازم الغروية وفقده كل الخواص العادية، وإذا تكون الثلج في المسافات البينية فإنه يستخلص الماء من الخلايا، ومن ثم يسبب جفاف البروتوبلازم وزيادة تركيز العصير الخلوي زيادة كبيرة.

بالنسبة للمذيبات العضوية فقد وجد أن الإثير والكلوروفورم والكحول وغيره من المواد السامة إذا وجدت في بيئة النبات بتركيزات عالية فإنها تسبب زيادة غير

عكسية في النفاذية يعقبها موت للخلايا. ويعزى تأثير المواد السامة في نفاذية الغشاء البلازمي إلى أن هذه المواد، بالإضافة إلى تأثيرها كمذيبات لبعض أطوار السيتوبلازم، تعمل على خفض توتر السطح الفاصل بين السيتوبلازم والمحلول الخارجي المنغمسة فيه الخلية، وقد يؤدي ذلك إلى إحداث تغيرات في الأغشية البلازمية يكون من شأنها أن تفقد خواصها الفسيولوجية.

دلت أبحاث كثيرة على أن الضوء يؤثر في نفاذية الخلية النباتية، فقد وجد في خلايا أوراق القرنيات أن نفاذية الخلايا تزداد عند تعرضها للضوء وتقل في الظلام. كذلك فإن زيادة النفاذية يتبعها نقص في حجم الخلايا، أما انخفاض النفاذية فيسبب زيادة ضغط الامتلاء وزيادة حجم الخلايا.

وتتباين أشعة الطيف المختلفة في تأثيرها في النفاذية، فالأشعة البنفسجية، وهي أقصر موجات الطيف المرئي طولاً، هي أشد الأشعة تأثيراً في النفاذية، أما الأشعة الحمراء فأقلها.

كذلك لابد من دراسة تأثير المواد الذائبة في بيئة النبات على النفاذية، كالأملاح المختلفة والتي يستعان في تقديرها بطريقة قياس التوصيل الكهربي لأنسجة بعض من طحالب اللامينياريا Laminaria، فينقص التوصيل الكهربي لهذا الطحلب عند وضعه في محلول من كلوريد الصوديوم ويعزى هذا النقص في المقاومة إلى زيادة النفاذية. وقد وجد أن الأملاح ذات الكاتيونات ثنائية التكافؤ مثل Ca^{++} تنفذ داخل سيتوبلازم الخلايا النباتية وينتج عن ذلك زيادة في النفاذية للخلية مما يؤدي إلى انتفاخ السيتوبلازم وانتقال الماء إليه من الفجوة العصارية فيؤدي انكماش الفجوة إلى زيادة نفاذية الصبغة.

وستشمل هذه التجربة دراسة تأثير كل من درجات الحرارة المختلفة وكذلك التجمد والمواد العضوية والمواد الذائبة في بيئة النبات على معدل النفاذية في أجزاء من أنسجة جذر البنجر.

المواد والأدوات اللازمة

١- جذور من البنجر ذات أحجام كبيرة
٢- ثاقب فليني سمكه ١سم وآلة قطع.
٣- أطباق بتري زجاجية.
٤- ثلاجة للتجميد Freezer
٥- حمام مائي.
٦- مذيب عضوي وليكن أسيتون بتركيز ٥٠ ٪.
٧- أنابيب زجاجية.
٨- كؤوس Beakers سعة ٢٥٠ ، ٥٠٠ مل.
٩- ترمومتر للتأكد من حرارة الحمام المائي.
١٠- جهاز قياس الطيف الضوئي Spectrophotometer.
١١- محلول كلوريد كالسيوم (4٪) $CaCl_2$.

طريقة العمل

١- باستخدام الثاقب الفليني أحصل على قطع اسطوانية كبيرة ثم اعمل منها قطاعات (أقراص) بسمك $\frac{1}{2}$ سنتيمتر وطبعاً قطرها ١سم إذن فهي معلومة الأحجام.

٢- استخدم ماء مقطر في غسل هذه القطاعات جيداً حتى تزيل صبغة البيتانين العالقة على سطح القطاعات من جراء تمزق الخلايا. كرر الغسيل أكثر من مرة بماء

مقطر جديد. (استعمل عدد ثابت من تلك القطاعات المتساوية الأحجام في جميع معاملات التجربة).

٣- ضع ٣ قطع من قطاعات البنجر في طبق بتري وأغلق الطبق بالغطاء ثم ضعه في المجمد Freezer لمدة ساعة حتى يتجمد تماماً ثم انقلها إلى أنبوبة بها ماء مقطر بعد مضي الزمن المحدد.

٤- ضع ٣ قطع أخرى من قطاعات البنجر في الثلاجة (درجة الحرارة ٥ °م) لمدة نصف ساعة. ثم انقل القطاعات إلى أنبوبة بها ماء مقطر بعد مضي الوقت.

٥- ضع ٣ قطاعات من نسيج البنجر في أنبوبة اختبار بها ١٠ مل من محلول الأسيتون ٥٠٪ على درجة حرارة الغرفة العادية مع مراعاة رج الأنبوبة من حين لآخر ومراعاة غلقها بسدادة محكمة لعدم تبخر المذيب وذلك لمدة دقيقة واحدة. ثم انقلها لأنبوبة بها ماء مقطر.

٦- ضع كذلك ٣ قطاعات من البنجر في أنبوبة اختبار بها ١٠ مل من محلول كلوريد الكالسيوم ٤٪ مع هز الأنبوبة قليلاً لمدة دقيقة واحدة ثم انقلها لأنبوبة تحتوي على ماء مقطر.

٧- ضع ٣ قطاعات من البنجر في أنبوبة بها ١٠ مل ماء مقطر على درجة حرارة الغرفة.

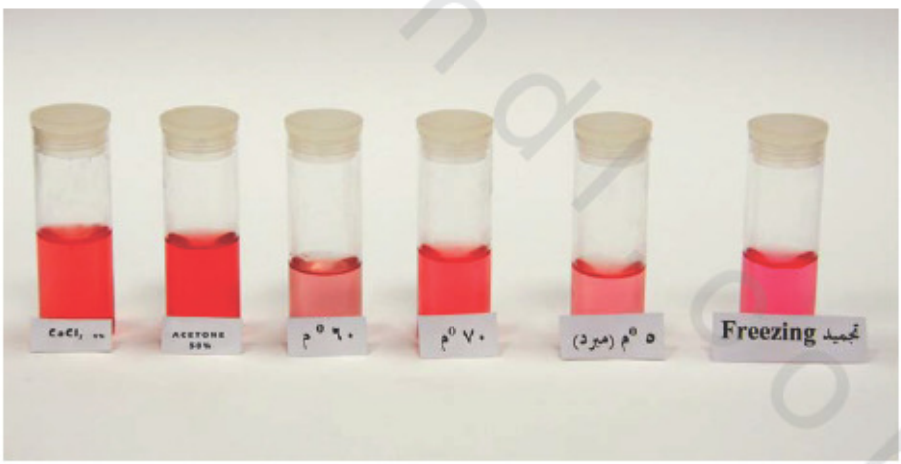
٨- اغمر ٣ قطاعات في كأس به ماء مقطر داخل حمام مائي درجة حرارته ٧٠ °م لمدة دقيقة واحدة مع مراعاة التقاط القطاعات بملقط بلاستيك لعدم الضغط على النسيج وإجبار الصبغة على الخروج. بعد مضي الدقيقة ضع القطاعات في أنبوبة بها ١٠ مل ماء مقطر.

٩- اغمر ٣ قطاعات أخرى في حمام مائي درجة حرارته ٦٠ ٥م لمدة دقيقة واحدة ثم انقلها إلى أنبوبة اختبار بها ماء مقطر.

١٠- كرر نفس الخطوات على قطاعات في الحمام المائي درجة حرارته ٥٠ °م ثم ماء مقطر.

١١- وكذلك كرر نفس الخطوات في حمام مائي حرارته ٤٠ °م ثم ماء مقطر.

١٢- يجب مراعاة هذه الخطوة وهي ترك جميع قطاعات المعاملات في الماء المقطر لمدة نصف ساعة من نهاية الوقت المحدد لكل معاملة مع رج الأنابيب برفق لزيادة التجانس في صبغة البيتانين، (انظر الشكل رقم ٤٩).



الشكل رقم (٤٩) يوضح معاملات التجميد والحرارة والمواد الكيميائية لدراسة العوامل المؤثرة على نفاذية الأغشية الخلوية.

١٣- انقل أجزاء من هذه المحاليل (المعاملات) إلى أنابيب جهاز قياس الطيف الضوئي Spectoophotometer مع مراعاة الدقة في ترقيمها تبعاً للمعاملات.

١٤- سجل قراءات امتصاص Absorbance محاليل المعاملات وهي نفسها الكثافة البصرية Optical density (O.D.) عند طول موجة ٤٧٥ نانوميتر، فعند طول هذه الموجة يكون تقريباً أقصى امتصاص لمحاليل صبغة البيتانين. (راجع ملحق القياسات الضوئية).

١٥- سجل بياناتك في جدول وكذلك في صورة علاقات بيانية مع كتابة التقرير والمشاهدات والاستنتاج ثم بعد ذلك حدد ما هي أكثر المعاملات تأثيراً.

قراءات الكثافة البصرية (الامتصاص) عند المعاملات المختلفة.

المعاملة	الكثافة البصرية O.D. (الامتصاص)
درجة التجميد	
درجة التبريد ٥ °م	
محلول اسيتون ٥٠٪	
محلول كلوريد كالسيوم ٤٪	
ماء مقطر (حرارة الغرفة)	
ماء مقطر (٧٠ °م)	
ماء مقطر (٦٠ °م)	
ماء مقطر (٥٠ °م)	
ماء مقطر (٤٠ °م)	

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 (٢٢): تقدير معدل النتح Transpiration Rate بطريقة الورقة المفصولة (ميزان تورشن Torsion)

مقدمـــة

النتح هو خروج الماء على هيئة بخار من الأجزاء النباتية المعرضة للجو بالأخص الأوراق، وهو أساساً عملية تبخر ولكن تختلف عن البخر في الطبيعة نظراً لتأثير تركيب النبات. وهناك ثلاث مناطق رئيسية يعبر منها الماء من النبات على هيئة بخار، عبر الثغور وعبر أسطح خلايا البشرة في الأوراق والسيقان وعبر العديسات.

والماء يسلك عدة مسارات قبل خروجه من النبات إلى الخارج فالمسار الرئيسي أن يخترق الماء الأنسجة البرنشيمية إلى الطبقة العمادية والطبقة الاسفنجية في الورقة حيث توجد مناطق اتصال الطور السائل بالطور الغازي على الجدر الخلوية المحاطة بالفراغات الهوائية ومن هناك يتبخر الماء حيث يخرج عبر الثغور إلى الهواء الخارجي على هيئة بخار وهذا ما يعرف اصطلاحاً باسم النتح الثغري Stomatal transpiration وهو ما يسود في النباتات المورقة. ومن ثم يعتمد النتح الثغري على المحتوى المائي لخلايا النسيج الوسطي وعلى حركة الثغور، فهي عندما تكون منفتحة تسمح لبخار الماء بالمرور خلالها طالما كان ضغطه في المسافات البينية أعلى من ضغطه في الهواء الجوي المحيط بالنباتات، ولكن عندما تكون مغلقة فهي تعوق خروج بخار الماء.

وهناك عوامل عديدة تؤثر في معدل النتح أو بمعنى آخر العوامل المؤثرة في فتح وغلق الثغور، ولكن هناك خصائص معروفة للنباتات تؤثر أيضاً على معدل النتح مثل تركيب ومساحة الورقة ونسبة المجموع الجذري إلى المجموع الخضري وغيرها. كذلك هناك ظروف بيئية أخرى مثل الضوء وتركيز ثاني أكسيد الكربون والرطوبة النسبية ودرجة الحرارة وسرعة الرياح ووفرة الماء إلى غير ذلك من العوامل مثل ملوثات الجو والأمراض النباتية كلها مهمة في تأثيرها في فتح وغلق الثغور ومن ثم معدل النتح.

وتعتبر عملية قياس معدل النتح Transpiration Rate كلما دعت الحاجة إليها أمراً صعباً نظراً لأن عملية القياس نفسها تؤثر على النتح. ويعود ذلك إلى أن عملية النتح رغم بساطتها تتأثر بالعوامل السالفة الذكر وإن النتح ما هو إلا محصلة لتداخل هذه العوامل. ورغم هذه الصعوبات فهناك طرقاً عديدة لإجراء هذا القياس تتفاوت في الدقة والسرعة والتكلفة تفاوتاً كبيراً إلا أنه يجب الأخذ في الاعتبار أن قياس النتح يجب أن يدل دلالة كمية لا وصفية لكي تتم المقارنة بين الأنواع النباتية في الظروف المتشابهة مقارنة سليمة.

وقد تم اختيار الورقة النباتية المفصولة عن النبات لتقدير معدل النتح لما لها من خصائص ومميزات فمثلاً تعتبر هذه الطريقة مناسبة جداً لمقارنة معدلات النتح لعدة أنواع نباتية داخل الحقل، كذلك فهي غير مكلفة، ويستخدم فيها ميزان دقيق نسبياً هو ميزان تورشن والذي يمكن حمله بسهولة وكذلك من خلالها يمكن قياس عدد كبير من أوراق النبات الواحد وكذلك أكثر من نبات وبذلك يمكن أخذ قراءات عديدة في زمن قصير. ولا تعتبر قيم القراءات الناتجة باستخدام هذه الطريقة قيماً مطلقة لمعدل النتح في النبات ولكن ما هي إلا للمقارنة. كما أن الورقة لا تنتح أثناء التجربة نتحاً طبيعياً كما لو كانت تحت الظروف البيئية العادية.

المواد والأدوات اللازمة

١- نباتات نامية في اصص.

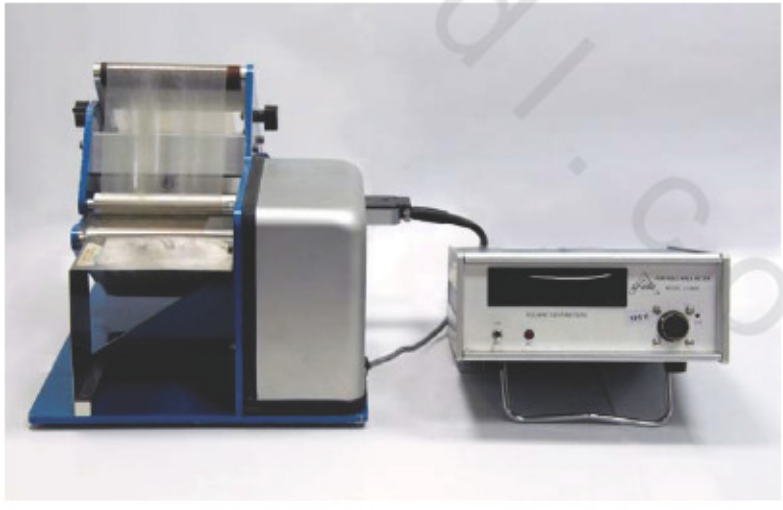
٢- ميزان تورشن Torsion balance ، (انظر الشكل رقم ٥٠).

٣- خيوط رقيقة لربط أعناق الأوراق.

٤- جهاز قياس مساحة الورقة Planimeter ، (انظر الشكل رقم ٥١).

٥- أوراق رسم بياني.

الشكل رقم (٥٠). ميزان تورشن Torsion لتقدير معدل النتح بطريقة الورقة المفصولة.



الشكل رقم (٥١). يوضح جهاز قياس مساحة أسطح الأوراق النباتية.

obeikandl.com

طريقة العمل

١- انتخب أحد أوراق النبات النامي في الأصيص واقطعها من عند العنق Petiole بموس حاد مباشرة قبل إجراء الوزن مع تنظيفها من الأتربة العالقة بدون استخدام الماء وليكن بفرشة ناعمة.

٢- يراعى معرفة موقع الورقة على النبات وكذلك مأخوذة من أي من النباتات إن كان هناك أكثر من إصيص، ثم اربط هذه الورقة من عند منطقة العنق بخيط رفيع.

٣- علق الورقة من طرف الخيط داخل الحجيرة في ذراع الميزان وأغلق الحجيرة بسرعة. لاحظ ألا تلامس أطراف الورقة جدران الحجيرة إذ لابد وأن تكون معلقة بطريقة حرة.

٤- حرك ذراع الميزان الخارجي لمطابقة المؤشر على صفر التدريج.

٥- سجل القراءة (الوزن) مباشرة وكذلك الزمن بدقة في بداية إجراء الوزن (مع الأخذ في الاعتبار أن الورقة مع الخيط تمثل وحدة واحدة في التقدير الوزني).

٦- تترك التجربة على درجة حرارة الغرفة العادية لفترة زمنية معينة.

٧- سجل الأوزان (القراءات) كل دقيقة واحدة.

٨- اعمل جدول توضح أعمدته وزن الورقة الأصلي ثم الأوزان المقدرة كل دقيقة.

٩- احسب الفرق في الوزن والذي يعبر عن كمية الماء المفقودة بالنتح خلال الفترات الزمنية المحددة ثم سجلها في الجدول السابق.

١٠- بعد إتمام تسجيل فروق أوزان الورقة للفترات الزمنية المحددة، حدد المساحة الكلية للورقة أو الأوراق Total leaf area وذلك باستخدام جهاز قياس مساحة سطح الورقة Planimeter .

١١- توضع الأوراق على ورقة رسم بياني وترسم عليه ثم تحدد المساحة الورقية إذا لم يتوفر الجهاز.

١٢- ممكن حساب كمية الماء المفقودة بالنتح لكل وحدة مساحة ولكل فترة زمنية محددة (بالجرام / السنتيمتر المربع من مساحة الورقة / على الفترة الزمنية - ساعة) g H_2O transpired \ cm^2 leaf area \ hour .

١٣- استعن بالجدول لعمل رسم بياني يوضح العلاقة بين قراءات كميات الماء المفقودة على المحور الأفقي والزمن بالدقيقة على المحور الرأسي ، ومن هذا المنحنى حدد معدل النتح وهي منطقة المنحنى التي يكون فيها معدل النتح ثابتاً تقريباً مابين دقيقتين وأربع دقائق ، وهو تقدير مقبول للمقارنة بين معدلات النتح للأنواع النباتية.

١٤.- من النتائج المتحصل عليها ناقش تأثير بعض العوامل البيئية المختلفة على معدل النتح وذلك في تقريرك المقدم للمشرف.

جدول يوضح معدل النتح للورقة المفصولة .

الزمن بالدقيقة	الوزن الاصلي للورقة	الوزن بعد النتح	كمية الماء المفقودة
دقيقة			
٢			
٣			
٤			
٥			
٦			
٧			
٨			
٩			
١٠			

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 (٢٣): تقدير الجهد الأسموزي بطريقة انخفاض نقطة التجمد
Determining Osmotic Potential by the Freezing Point Depression Method

مقدمة

من أفضل الطرق لقياس الجهد الأسموزي للعصير الخلوي وأكثرها شيوعاً ومازالت تعد أكثر الطرق استعمالاً حتى الآن هي طريقة قياس نقطة التجمد للمحلول (العصير الخلوي) والتي تعرف غالباً بالطريقة الكريوسكوبية Cryoscopic method. تبدو هذه الطريقة سهلة ودقيقة النتائج لحد ما وخاصة عندما تعدل قيم الجهد الأسموزي تبعاً لدرجة حرارة النبات المأخوذ منه العينة. وهذه الطريقة تعتمد على القاعدة المعروفة من أن المواد الذائبة تخفض قيمة الضغط البخاري للمذيب لذا فوجود مادة ذائبة في الماء تخفض من ضغط بخار الماء مما يتسبب في عدم تكوين الثلج عند درجة تجمد الماء. وهذا في حد ذاته اتزان في الضغط البخاري بين الماء السائل والصلب عند نقطة تجمد المحلول ككل. إن درجة التجمد للماء النقي هي صفر°م ولكن نقطة التجمد للمحاليل المائية التي تحتوي على مواد مذابة غير طيارة تكون أقل من الصفر.

هكذا فإنه عند إضافة مواد مذابة للماء فإنها تخفض من نقطة التجمد له. ومعروف إن انخفاض الضغط البخاري يتناسب مع الوزن الجزيئي للمذاب حسب قانون راؤولت. لذلك فإن علاقة الضغط البخاري مع درجة الحرارة للمادة المذابة توازي التغير في الضغط البخاري مع درجة الحرارة للماء النقي.

ومن الناحية النظرية فالجهد الأسموزي لواحد جزيئي وزني (مولار) من محلول نموذجي غير متأين عند درجة الصفر تساوي – ٢٢,٧ بار ودرجة تجمده تساوي – ١,٨٦ °م. من خلال تلك العلاقة يمكن حساب الجهد الأسموزي لأي محلول مجهول كما يلي:

$$\frac{\Psi_s}{\Delta f} = \frac{-22.7}{-1.8}$$

الجهد الأسموزي للمحلول $\Psi_s = 12.2 \ \Delta f \ (bar)$

حيث إن : Δf نقطة التجمد للمحلول درجة مئوية (أي مقدار الانخفاض عند الصفر).

ولأن المعادلة حسبت للمحلول عند صفر°م (أي عند درجة ٢٧٣ كالفن K).

لذا لابد من تعديل المعادلة إلى :

$$\Psi_s = 12.2 \ \Delta f \times (\text{room temp. in K} / 273 \ \text{K})(\text{bar})$$

المواد وطريقة العمل

عامة تجرى تجربة الانخفاض في نقطة التجمد على عصير نسيج البطاطس.

أولاً: تحضير مستخلص (عصير) من نسيج البطاطس Potato sap

١- جمد قطع من البطاطس ثم قشر تلك القطع بحرص بعد عملية التجميد.

٢- للحصول على مستخلص متجانس من النسيج ، تطحن القطع في خلاط blender حتى تصبح متجانسة.

٣- انقل العينة المتجانسة إلى أنابيب الطرد المركزي ويشغل الجهاز على درجة لف عالية لمدة ٥ دقائق.

٤- تخلص من الراسب وافصل المستخلص الرائق باستخدام قمع الفصل كما بالشكل رقم (٥٢).

قدر كل من Tanner, Bland عام ١٩٨٥ أن الجهد الأسموزي لدرنة البطاطس يتراوح بين (-5.8 to – 15.3 bar).

الشكل رقم (٥٢). يوضح قمع الفصل وكيفية فصل المستخلص من المادة المخضرة.

ثانياً: قياس انخفاض درجة التجمد

المواد والأدوات:

١- حامل Stand وماسك Clamps (ملزم).

obeikandl.com

٢- كأس beaker سعة ٦٠٠ مل.

٣- ثلج مجروش.

٤- ملح طعام.

٥- ترموميتر.

٦- أنبوبة اختبار مع غطاء مطاطي له فتحة للترموميتر.

٧- مقلب للحمام الثلجي (محرك).

٨- جهاز طرد مركزي Centrifuge.

٩- خلاط blender.

١٠- درنات بطاطس.

١١- ماء مقطر.

١٢- أقماع فصل.

طريقة العمل

١- قم بتركيب واعداد جهاز نقطة التجمد، كما هو موضح بالشـــكل رقم (٥٣، أ).

٢- اجري عملية معايرة Calibrate للترمومتر باستخدام ٣ مل ماء مقطر في أنبوبة اختبار العينة.

٣- اغمس هذه الأنبوبة بما فيها من ماء مقطر في كأس سعته ٦٠٠ مل يحتوي على كميات من الثلج المجروش والملح. هذا الحمام الثلجي لابد أن يكون درجة حرارته تتراوح من - ٥ إلى - ١٠ °م.

٤- اغمس الثرموميتر المعلق في طرف الأنبوبة داخل العينة مع التأكد بأن لا يلامس قاع أو جوانب الأنبوبة.

obeikandi.com

٥- قم بتقليب العينة باستمرار وراقب انخفاض درجة الحرارة. عندما تصل درجة الحرارة داخل أنبوبة العينة إلى درجة صفر°م، سجل قراءات الحرارة المنخفضة كل ١٠ ثوان كما بالجدول المرفق.

الشكل رقم (٥٣- أ). اعداد جهاز بسيط لتقدير الجهد الأسموزي بطريقة انخفاض نقطة التجمد Freezing Point Apparatus .

٦- ضع مستخلص البطاطس البارد بدلاً من الماء المقطر ثم قم بتكرار الخطوات السابقة. لاحظ تقارب قراءة درجات الحرارة. قم دورياً بنقرة (دقة خفيفة tap) برفق على طرف الثرمومتر لكي تستحث درجة التجمد. بمجرد حدوث درجة التجمد نجد أن درجة الحرارة تزداد بسرعة. راقب درجة الحرارة هذه والتي تحدد درجة

التجمد (Δf) ثم استمر في تسجيل قراءات درجات الحرارة حتى تصبح ثابتة.

(في بعض الأحيان، ربما تتجمد العينة بدون ملاحظة درجة الانصهار أو الذوبان على الثرموميتر. إذا حدث هذا لابد من التخلص من تلك العينة، وإعادة التجربة مرة أخرى. تستطيع أن تتوقع بأن هذه الظاهرة ستحدث إذا كان هناك معرفة سابقة لمعدلات تبريد ذلك المستخلص).

لاحظ أن درجة تجمد الماء لابد وأن تكون صفر °م. إذا لم تكن قيمة Δf للماء صفر°م، حينئذ لابد من تعديل أو تصحيح قيمة Δf للعينة (المستخلص) تبعاً لذلك.

إلا أن هناك جهاز خاص لقياس الجهد الأسموزي بطريقة انخفاض نقطة التجمد يسمى جهاز الأسموميتر (الشكل رقم ٥٣، ب) حيث يستخدم لتقدير الجهد الأسموزي بكل سهولة ودقة ودون عناء.

الشكل رقم (٥٣ ــ ب). يوضح جهاز الأسموميتر لقياس الجهد الأسموزي بطريقة إنخفاض نقطة التجمد.

عرض النتائج

١- استكمل الجدول المرفق.

٢- ارسم العلاقة (في صورة منحنى) بين كل من درجات حرارة الماء والعينة، (انظر شكل ٥٤).

٣- احسب نقطة التجمد (Δf Freezing Point) للعينة.

٤- احسب قيمة الجهد الأسموزي Ψ_s لمستخلص البطاطس تبعاً للمعادلة المذكورة سابقاً.

الشكل رقم (٥٤). يوضح العلاقة بين درجات الحرارة (°م) والزمن بالثانية للحصول على معدل التغير (Δf) في تجربة تقدير الجهد الأسموزي بطريقة انخفاض نقطة التجمد.

obeikandl.com

الطريقة التقليدية هي استخدام ثرموميتر حساس (ثرمومتر بكمان) حيث يوضع طرفه في العينة (العصير الخلوي) وقد جرت عدة تحسينات على هذه الطريقة لزيادة كفاءتها كاستعمال الثرمستور بدلاً من الثرمومتر أو استبدال الأخير بمزدوج حراري. ويلاحظ من الشكل أن الوعاء ما هو إلا للعزل الحراري عن الوسط.

ويوضح الشكل رقم (٥٤) العلاقة البيانية بين قراءات المزدوج الحراري التي تقارن بقراءة المذيب (في هذه الحالة هو الماء النقي) وبين الزمن بالثانية للحصول على الفرق Δf للتعويض في المعادلة.

جدول يوضح درجة التجمد لكل من الماء ومستخلص البطاطس

الوقت (ثانية)	درجة الحرارة ($^{\circ}$ م)	
	المـــاء	البطاطس

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