الفصل السابع

التنفس
Respiration

مقدمـــــــة

تظهر أهمية التنفس لكونه العملية الأساسية والعامة في جميع الكائنات الحية والتي عن طريقها يتمكن الكائن الحي من الاستمرار والبقاء حياً باستعمال المواد الغذائية الموجودة في بيئته أو داخله، والتي يعمل الكائن الحي على أكسدتها لاستهلاك الطاقة الموجودة به وتوفير كثير من المركبات الوسطية لتكون أساساً لبناء الجزيئات الأخرى المطلوبة في عملية البناء. والنباتات الخضراء تستغل جزء من الطاقة الضوئية لتحويلها إلى طاقة كيميائية مخزونة على هيئة مركبات عضوية. هذه المركبات العضوية تستغلها خلايا النبات والحيوان، إذ تقوم بتكسيرها وخزن الطاقة الناتجة على هيئة روابط فوسفاتية ذات طاقة عالية في مركب ثلاثي فوسفات الأدينوزين Adenosine triphosphate (ATP) ومن الاسم والتركيب يتبين أن هذا المركب يضم ثلاث مجموعات من الفوسفات والرابطتان الأخيرتان في ذلك الجزيء هما رابطتان عاليتا الطاقة، ويمكن إطلاقها بالتحلل المائي عند الحاجة، والعملية المسئولة عن تكسير هذه المركبات العضوية وتحرير طاقتها. ولذلك تكوين (ATP) في الخلايا الحية هي عملية التنفس الخلوي Cellular respiration التي تحدث معظم تفاعلاتها في الميتوكوندريا. ويقصد بالتنفس الخلوي مجموعة العمليات التي تحدث داخل الخلية والتي بموجبها يتم تحويل المواد الغذائية

المعقدة إلى مركبات أقل تعقيداً في التركيب مع تحرير الطاقة الكامنة في تلك المواد على دفعات. وعملية التنفس هذه هي عملية أكسدة للمواد الغذائية واختزال للأكسجين لتكوين الماء، فمثلاً سكر الجلوكوز عندما يدخل في التنفس تكون معادلة التنفس على النحو التالي:

$$C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \longrightarrow 6CO_2 + 6H_2O + Energy$$

عموماً التنفس الخلوي إما أن يكون هوائياً أو لا هوائياً حسب وجود الأكسيجين ونوع الكائن الحي.

التنفس الخلوي الهوائي Aerobic Respiration

هذا النوع من التنفس هو السائد في النباتات الخضراء والحيوانات الراقية (كما في المعادلة السابقة) وهو عبارة عن مجموعة من التفاعلات المتتالية يمكن تقسيمها إلى ثلاث مراحل رئيسة وكمثال لتوضيح هذه المراحل فأكسدة الجلوكوز كمادة غذائية تدخل في التنفس، تتم حسب خطوات متتالية معقدة كالتحلل السكري Glycolysis، ثم دورة كربس Krebs cycle ثم سلسلة نقل الالكترونات Electron transport chain، والأخيرة عبارة عن مجموعة من المركبات الناقلة للإلكترونات والموجودة على الغشاء الداخلي للميتوكوندريا حيث تترتب بطريقة معينة بحيث تنتقل الإلكترونات من مركب ذي جهد تأكسدي اختزالي منخفض (أي من الصعب اختزاله حسب قوانين الديناميكا الحرارية) إلى مركب آخر ذي جهد تأكسدي اختزالي أعلى من سابقه حتى ينتهي المطاف بالإلكترونات إلى الأكسجين الذي يتصف بجهد تأكسدي اختزالي عال بالنسبة لهذه المركبات المكونة لسلسلة نقل الإلكترون، وهنا يتحد الأكسجين مع أيونات الهيدروجين لتكوين الماء. ويعتقد أن الترتيب متتابع بحيث يكون نقل الإلكترون في

اتجاه واحد وحسب فرق الجهد. وترجع الأهمية الرئيسية من نظام نقل الإلكترونات هي أن تدفق الإلكترونات من مركب NADH، $FADH_2$ إلى الأكسجين ينتج عنه تكوين ATP من ADP أي فسفرة مركب ADP بإضافة مجموعة الفوسفات غير العضوية Pi ، وهذا مايعرف بالفسفرة التأكسدية.

التنفس الخلوي اللاهوائي Anaerobic Respiration

في غياب الأكسيجين الذي يعتبر المستقبل الأخير للإلكترونات، فإن عملية نقل الإلكترونات في السلسلة تتوقف وبالتالي تتوقف دورة كربس لذا فإن عملية الحصول على الطاقة من الجلوكوز تقتصر على عملية التحلل السكري Glycolysis حيث أن الناتج النهائي في التحلل السكري يتحول إلى مركبات أخرى لإنتاج المرافق الإنزيمي NAD^+ (ثنائي نكليدات أدينين النيكوتيناميد Nicotinamide Adenine Dinucleotide) لكي تتم الدورة له.

ومن أمثلة ذلك ما يعرف بعملية التخمر الكحولي Fermentation حيث يتحول حمض البيروفيك إلى أسيتالدهيد مع فقد جزيء ثاني أكسيد الكربون ومن ثم يتحول الأسيتالدهيد بواسطة NADH المتكونة أولاً في التحلل السكري إلى كحول إيثيلي Ethyl alcohol (الشكل رقم ٦٦) كما في عملية تخمر سكر العنب بواسطة الخميرة Yeast. وهنا يتضح أن جميع خطوات التفاعل في التحلل السكري جزء من عملية التخمر. وهذه العملية مع بعض التحورات البسيطة، هي الوسيلة الوحيدة للحصول على الطاقة في غياب الأكسيجين في بعض الفطريات كالخمائر والكائنات الدقيقة الأخرى.

وفي التجارب التالية سوف نقوم بدراسة التنفس الخلوي اللاهوائي Anaerobic respiration وطرق قياسه، وكذلك تعيين معامل التنفس.

التجربة رقم (٣٢): تعيين معامل التنفس باستخدام جهاز فاربورج
Determination of Respiratory Quotient (RQ) by Warburg,s Respirometer

مقدمة

معامل التنفس (Respiratory Quotient) أو اختصاراً (RQ)، هو عبارة عن مقياس لنسبة تحرر ثاني أكسيد الكربون إلى استهلاك الأكسجين في عملية التنفس (CO_2 / O_2)، فعندما يكون الجلوكوز مادة التفاعل في التنفس ويتأكسد كلية فإن حجم الأكسجين المستهلك في هذه العملية يجب أن يساوي حجم ثاني أكسيد الكربون المنطلق. ومن هنا ، فالنسبة الجزيئية تساوي الوحدة (أي واحداً صحيحاً) وهذا مايلاحظ عند قياس معدل تنفس كثير من بذور الحبوب وبعض البقوليات عند إنباتها ؛ نظراً لأن مخزونها الغذائي عبارة عن مواد سكرية.

أما في بذور النباتات التي تحتوي على مواد دهنية فالنسبة تكون كسراً نظراً لاختلاف مادة التفاعل بالنسبة للتنفس ولأن نسبة الكربون والهيدروجين والأكسجين بالدهون تختلف عنها بالسكريات. ومن هنا، فإن معامل التنفس يدل على نوع المواد المؤكسدة أو الحالة التأكسدية للمادة الداخلة كمادة تفاعل للتنفس. ولكن من ناحية أخرى قد يدل معامل التنفس على نوع التفاعلات. فمثلاً، معامل التنفس العالي قد يدل على اشتراك عملية التخمر في التنفس. لهذا، فإن معامل التنفس بمدلولاته الكثيرة ليس ذا أهمية كبيرة في دراسات التنفس ماعدا الحالات المحكمة من الناحية التجريبية والتي تكون ظروفها مفهومة جيداً. عموماً يمكن القول إن معامل التنفس على وجه الدقة هو نسبة عدد الجزيئات من ثاني أكسيد الكربون إلى عدد الجزيئات من الأكسجين. ومن حساب هذه النسبة يمكن التفريق بين نوعي التنفس الخلوي أو نسبة وجودهما، فالتنفس الهوائي يعطي نسبة ١ : ١ بينما اللاهوائي تكون النسبة ١ : صفر

(أي مالا نهاية). أما إذا كانت النسبة أكبر من واحد فهذه إشارة إلى أن كلا النوعين من التنفس يعملان معاً.

سبق القول إنه إذا كانت المادة المستهلكة في التنفس سكراً بسيطاً فإنه يتضح من معادلة التنفس أن ستة جزئيات من الأكسجين قد استعملت في أكسدة جزيء واحد من هذا السكر وأن ستة جزيئات من ثاني أكسيد الكربون قد تصاعدت نتيجة لذلك، أي أن النسبة بين حجم CO_2 المتصاعد وحجم O_2 الممتص أي $\frac{CO_2}{O_2}$ = تساوي الوحدة وهي ما تعرف باسم النسبة التنفسية أو معامل التنفس. أما إذا استخدمت مادة دهنية في التنفس (كبذور نبات الخروع الزيتية) فإنها تتطلب قدراً كبيراً من الأكسجين لكي يتم تأكسدها إلى ثاني أكسيد الكربون والماء وذلك لأن نسبة الأكسيجين في جزيئها أقل من نسبته في جزيء المادة السكرية. فمثلاً يتطلب تأكسد جزيء الدهن (ثلاثي البالمتين Tri-Palmitin) تأكسداً تاماً استهلاك ٧٢ جزيء من الأكسجين، ويتصاعد في نفس الوقت ٥١ جزيئاً من ثاني أكسيد الكربون، كما يتضح من المعادلة التالية :

$$C_{51}\ H_{98}\ O_6 + 72\ O_2 \longrightarrow 51\ CO_2 + 49\ H_2O + \text{Energy (7590)}$$

وعلى ذلك فإن معامل التنفس عندما تكون المادة المستعملة مادة دهنية يقل عن الواحد فيساوي في هذه الحالة :

$$\frac{51CO_2}{72O_2} = 0.7$$

مع العلم بأن تأكسد المادة الدهنية لا يكون في الحقيقة تأكسداً مباشراً بل أنها تتحلل أولاً إلى أحماض دهنية وجلسرين. وبالمثل عندما تتأكسد نواتج تحليل المواد

البروتينية فإن معامل التنفس يكون أقل من الوحدة؛ وذلك لأن نسبة الأكسجين إلى الكربون في مثل هذه المركبات أقل منها في المواد الكربوهيدراتية .

هناك أيضاً عوامل خارجية تؤثر في قيمة معامل التنفس، فارتفاع درجة الحرارة مثلاً في حدود معينة يرفع من قيمة هذا المعامل بالقدر الذي تتأثر به سرعة عمليات التأكسد. ففي حالة النباتات العصيرية يساعد ارتفاع درجة الحرارة على تأكسد الأحماض العضوية التي تراكمت في درجات الحرارة المنخفضة، ومن ثم يزيد معامل التنفس. كذلك يؤدي انخفاض تركيز الأكسجين في الجو المحيط بالنبات عن نسبة معينة ـ تختلف باختلاف النبات المستعمل ـ إلى ارتفاع معامل التنفس؛ وذلك لاحتمال خروج كمية من ثاني أكسيد الكربون من عمليات لاهوائية لا تتطلب امتصاص الأكسجين. ولزيادة تركيز ثاني أكسيد الكربون في الجو المحيط بالنبات تأثيراً ملحوظاً في خفض معدل التنفس، ولما كان النقص في ثاني أكسيد الكربون المتصاعد أكبر منه بالنسبة للأكسجين الممتص فإن معامل التنفس ينخفض هو الآخر.

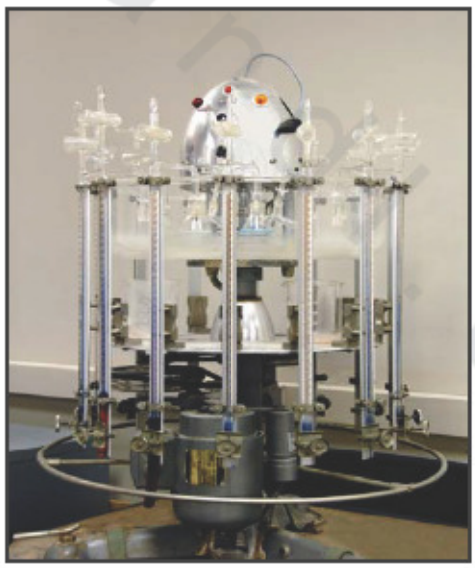
ويستخدم في قياس سرعة التنفس عدة طرق، أساسها تقدير الأكسجين المستهلك أو ثاني أكسيد الكربون المتصاعد أو كليهما معاً. ويجب عند قياس سرعة التنفس لنبات ما أو أجزاء نباتية خضراء أن تحجب هذه عن الضوء ـ أو تجرى التجربة في الظلام – حتى لا يتعرض التبادل الغازي لتعقيدات مصدرها حدوث البناء الضوئي جنباً إلى جنب مع التنفس، حيث إن ما يمتص في العملية الأولى يتصاعد أثناء العملية الثانية والعكس بالعكس. والأجهزة المستخدمة لذلك كثيرة وخاصة ما يستعمل منها لتقدير ثاني أكسيد الكربون المتصاعد، إذ إن وسائل تقديره كيميائياً أيسر وأكثر تداولاً.

الهدف من هذه التجربة هو تعيين وتقدير معامل التنفس للبذور المستنبتة وكذلك لبعض الفطريات والطحالب.

المواد والأدوات المستخدمة

١- جهاز فاربورج وهو عبارة عن عدة مانوميترات (جهاز لقياس الضغط)، كما بالشكل رقم (٦٥ ، أ).

٢- قنينات فاربورج وهي عبارة عن دوارق مخروطية ذات ذراع جانبي وبها وعاء داخلي صغير في قاع الدورق، كما بالشكل رقم (٦٥ ، ب). ثم توضع الدوارق في حمام مائي ذو درجة حرارة ثابتة.



الشكل رقم (٦٥– أ). جهاز فاربورج لتعيين معامل التنفس

. Warburg,s Respirometer

الشكل رقم (٦٥– ب). يوضح قنينة فاربورج ذات الغرف الثلاثية .

٣- ثرموميتر مع سدادات مطاطية مثقبة لدخول الثرمومتر.

٤- أنابيب مطاطية ذات جدر رقيقة.

٥- بذور شعير منبتة وبذور زيتية منبتة (بذور الخروع).

٦- سائل ملون خاص بالمانوميتر.

٧- محلول هيدروكسيد البوتاسيوم (٢ عياري).

٨- محلول حمض الهيدروكلوريك HCl (٦ عياري).

طريقة العمل

١- توضع بذور الشعير المنبتة (أو الفطريات أو الطحالب) داخل قنينة فاربورج المخروطية ولكن في الوعاء الصغير الأنبوبي الشكل داخل القنينة ويرمز له بالحرف (ب)، كما بالشكل رقم (٦٥– ب).

٢- يوضع ½ مل محلول حمض الهيدروكلوريك في الفراغ (ج) بالقنينة.

obeikandl.com

٣- يوضع ١ مل من محلول هيدروكسيد البوتاسيوم في قاع القنينة (أ).

٤- يوصل أنبوبة المانوميتر بمستودع السائل الملون (أزرق الميثيلين) عن طريق الأنابيب المطاطية مع ملاحظة طلاء جميع الوصلات بمادة الفازلين.

٥- يجهز مانوميتر آخر وبه نفس المحتويات ولكن بدون المادة النباتية.

٦- تغمر القنينات وهي مثبتة بالمانوميترات في الحمام المائي على درجة حرارة ثابتة.

٧- يترك الصمام العلوي للمانوميتر مفتوحاً مع ترك الجهاز ككل يهتز لمدة ١٥ دقيقة ثم يضغط قليلاً على صمام مستودع السائل الملون فنلاحظ اندفاع المادة الملونة داخل المانوميتر لتناقص حجم الغاز في الوعاء ويرتفع السائل في ساق المانوميتر القريبة منه بمقدار الأكسجين المستهلك فقط.

٨- تسجل قراءة المانوميتر ويحسب حجم الأكسجين الممتص نتيجة عملية التنفس.

٩- في هذه الحالة فقد امتص هيدروكسيد البوتاسيوم غاز ثاني أكسيد الكربون الناتج من التنفس.

١٠- لتعيين معامل التنفس يلزم استعمال مادتين نباتيتين متجانستين، يستعمل إحداهما في تقدير محتوى المحاليل المستخدمة من CO_2 (البلانك) ويجرى ذلك بأن يسكب الحمض من الوعاء (ج) إلى الغرفة (أ) فيتفاعل الحمض مع القلوي، وبهذا التفاعل يتحرر CO_2 الذي قد أُمتص سابقاً بفعل هيدروكسيد البوتاسيوم.

يلاحظ في هذه الخطوة انخفاض المحلول في ساق المانوميتر وهذه دلالة على كمية CO_2 المتصاعدة، تؤخذ قراءة المانوميتر في هذه الحالة.

١١- أما المادة النباتية الثانية والموضوعة في الجهاز الآخر فإنها تترك حتى تتم عملية التنفس كاملة.

١٢- بعد انتهاء التجربة يقاس حجم الأكسيجين المستهلك ثم يصب الحمض كما في الجهاز الأول فيتصاعد غاز CO_2 الناتج من التنفس والذي يكون قد تم امتصاصه بواسطة القلوي.

١٣- يحسب معامل التنفس كالآتي :

$$RQ = \frac{\text{حجم } CO_2 \text{ الناتج (سم}^3\text{)} - \text{حجم } CO_2 \text{ في البلانك (سم}^3\text{)}}{\text{حجم الأكسجين المستهلك (سم}^3\text{)}}$$

١٤- اكتب البيانات في الجدول المرفق واكتب التقرير.

١٥- علل :

أ) إضافة مركب قلوي.

ب) سكب الحامض وتفاعله مع القلوي.

ج) استخدام بذور منبتة من الشعير ومرة أخرى من البذور الزيتية.

د) أحياناً يكون معامل التنفس ذو قيمة عالية.

يمكن إجراء تجربة مماثلة ولكنها مختصرة كالآتي :

خطوات العمل

١- توضع المادة النباتية في الدورق المخروطي (قنينة فاربورج) في الجزء (ب).

٢- يوضع في قاعدة القنينة (أ) مركب هيدروكسيد البوتاسيوم وهي مادة ماصة لغاز ثاني أكسيد الكربون الناتج من عملية التنفس.

٣- يوصل الوعاء بالمانومتر، فعند التنفس تمتص المادة النباتية الأكسجين وينطلق ثاني أكسيد الكربون الذي بدوره يُمتص بواسطة القلوي (هيدروكسيد الصوديوم) الموجود في الوعاء (الدورق المخروطي).

٤- لاحظ تناقص حجم الغاز في الوعاء وبذلك يرتفع السائل الملون في ساق المانومتر القريبة منه بمقدار الأكسجين المستهلك فقط.

٥- أجرِ في نفس الوقت تجربة أخرى تستخدم فيها مادة نباتية مماثلة للأولى تماماً.

٦- لا تضع القلوي (هيدروكسيد البوتاسيوم) الماص لثاني أكسيد الكربون في حوض الدورق.

٧- في هذه الحالة سيسجل المانومتر الفرق بين حجم غاز ثاني أكسيد الكربون المتصاعد وحجم الأكسجين الممتص.

٨- احسب حجم الغازين ثم قدر معامل التنافس كما سبق.

٩- سجل القراءات المانوميترية الثلاثة وهي :

أ) قراءة قبل بداية التجربة.

ب) قراءة بعد إتمام عملية التنفس وقبل سكب القلوي.

ج) قراءة بعد سكب القلوي.

١٠- استخدم مواد نباتية أخرى وكرر نفس الخطوات.

القراءات المانومترية (بجهاز فاربورج) قبل وبعد إضافة الحمض للقلوي

المادة النباتية	الكمية	القراءة قبل بداية التجربة	القراءة بعد اتمام عملية التنفس وقبل سكب القلوي	القراءة بعد سكب القلوي
حبوب الشعير المنبتة				
حبوب الخروع المنبتة				
فطريات				
طحالب				

تقدير حجم الاكسجين وثاني أكسيد الكربون لتعيين معامل التنفس

المادة النباتية	حجم CO_2 الناتج (سم ^{3})	حجم CO_2 في البلانك (سم ^{3})	حجم الأكسجين المستهلك (سم ^{3})	معامل التنفس RG
حبوب الشعير المنبتة				
حبوب الخروع المنبتة				
فطريات				
طحالب				

openkapi.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:

.....

.....

.....

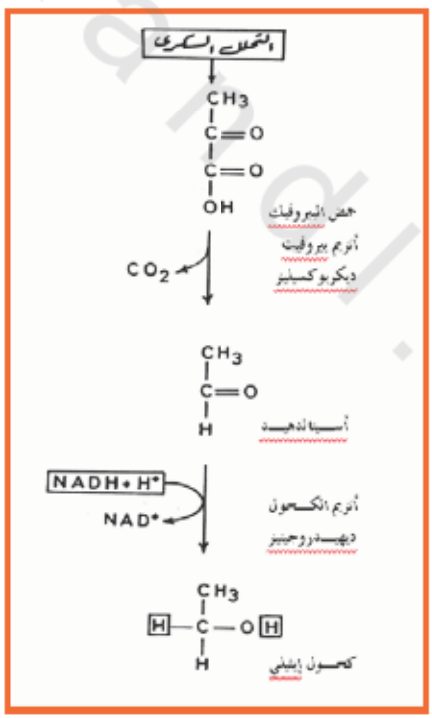
obeikandl.com

التجربة رقم (٣٣) : طريقـــة قياس التنفس اللاهوائي للخميرة باستخدام جهاز المانومتر

Measurement of Anaerobic Respiration for the Yeast by Manometer

مقدمـــة

الفكرة الأساسية من هذه التجربة هو حدوث التخمر الكحولي في فطرة الخميرة وفي مثل هذا التفاعل يعمل حمض البيروفيك كمستقبل للهيدروجين المنطلق من NADH عن (Arms and Camp,1979). كما في المخطط الموضح ، كما بالشكل رقم (٦٦).



الشكل رقم (٦٦). التخمر الكحولي في فطرة الخميرة. في مثل هذا التفاعل يعمل حمض البيروفيك كمستقبل للهيدروجين المنطلق من NADH.

وسيتم في هذه الطريقة قياس معدل سرعة التنفس اللاهوائي باستعمال مانوميتر، حيث تتلخص الطريقة في قياس زيادة ضغط الغاز المنطلق في عملية التنفس اللاهوائي. وهكذا فإن غاز ثاني أكسيد الكربون يزيد من الضغط داخل الدورق الخاص بالجهاز مما يسبب تحرك المحلول الملون داخل الأنبوبة المانومترية بمرور الوقت. من ذلك كله نستنتج أن التخمر الكحولي Fermentation الذي تحدثه الخميرة Yeast يحدث تحول السكر إلى كحول إيثيلي أثناء عملية التنفس اللاهوائي.

المواد والأدوات اللازمة

١- جهاز مانومتر.

٢- خميرة Yeast .

٣- محلول جلوكوز ١٠ ٪ .

٤- دوارق فاربورج Warburg flasks .

٥- سائل معين يسمى (سائل برودي) مع صبغة ملونة .

طريقة العمل

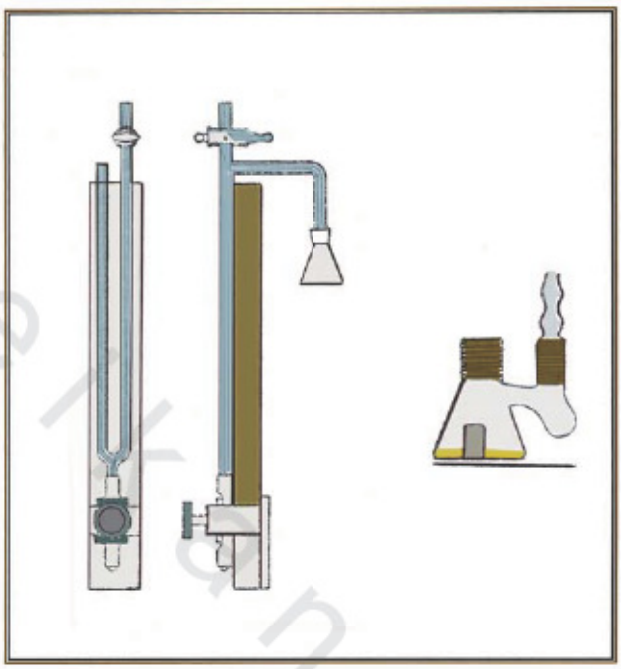
١- جهز معلقاً من الخميرة في محلول الجلوكوز ١٠٪

٢- ضع كمية قليلة من هذا المعلق في دورق القياس المانومتري (فاربورج) ثم ثبت الجهاز كما بالشكل الموضح، كما بالشكل رقم (٦٧).

٣- اترك الصمام مفتوح حتى يتوازن الجهاز مع درجة الحرارة.

٤- اقفل الصمام، ثم ابدأ في أخذ قراءات المحلول أي تحرك الصبغة داخل المانوميتر.

٥- سجل قراءات ارتفاع محلول الصبغة في المانوميتر كل ٣٠ ثانية بما يعادل ٨ قراءات أي على مدى ٤ دقائق.



الشكل رقم (٦٧). يوضح تركيب جهاز المانوميتر لقياس سرعة التنفس اللاهوائي للخميرة

٦- عندما يرتفع المحلول الملون لأقصى حد، يمكنك فتح الصمام لتعادل سطحي المانوميتر مرة أخرى.

٧- سجل البيانات في صورة منحنى بياني يوضح العلاقة بين الوقت على المحور الرأسي والتغير في مستوى سطح السائل الملون على المحور الأفقي. (أكتب في تقريرك الاستنتاج من رسم المنحنى).

كما ذكرنا في المقدمة يتكون كحول الإيثيلي (كناتج لعملية التنفس اللاهوائي) في حيز الدورق، لذلك يمكننا الكشف عن الكحول الإيثيلي باستخدام محلول اليود مع يوديد البوتاسيوم فتتكون بلورات من مركب اليودوفورم التي لها رائحة مميزة.

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