

# Plant Physiology

## Lab Experiments

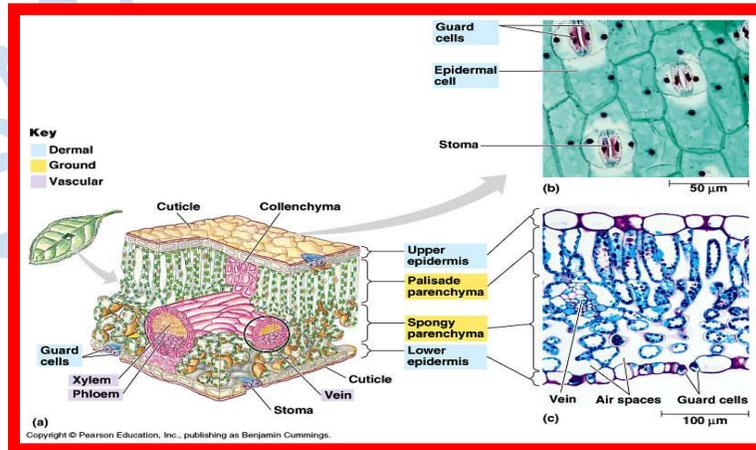
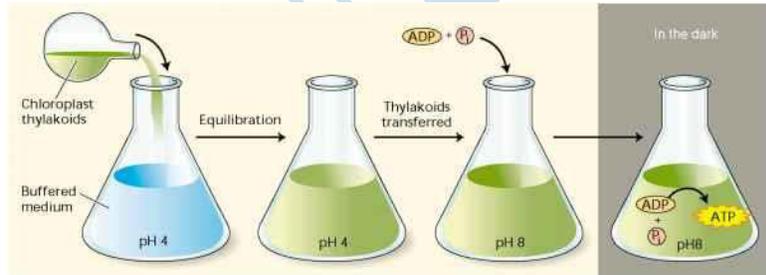
Dr. Arshad Naji Alhasnawi

محاضرات فسلجة نبات

الجزء العملي

قسم علوم الحياة / المرحلة الرابعة

كلية التربية للعلوم الصرفة – جامعة المثنى



## قائمة المحتويات

- انواع المحاليل الفسلجية وطرق تحضيراتها وتراكيزها
- المحاليل والانظمة الغروية Solutions and Colloidal Systems
- طبيعة المحاليل The Nature of Solutions
- انواع المحاليل Types of Solutions
- انواع المحاليل بالنسبة لتركيزها وطرق تحضيرها
- المحاليل الجزيئية الغرامية (المولارية) (M) Molar Solutions (M)
- محاليل المولال (المولالية) (m) Molal Solutions (m)
- محاليل العيارية (N) Normal Solutions (N)
- محاليل الجزء بالمليون (ppm) Part Per Millions (ppm)
- محاليل النسبة المئوية Percent Solutions
- تخفيف المحاليل Dilution of solutions
- انواع البفرات وقياس قيمة pH واهميتها الفسلجية
- تعريف المحلول المنظم (البفري) Buffer Solution
- تتكون المحاليل المنظمة (البفرات)
- كيف يعمل المحلول المنظم (البفري)
- تفسير عمل المحلول المنظم (البفري)
- الاهميتها الكيميائية المنظمة (البفرات)
- الاهميتها الفسلجية للمحاليل المنظمة (البفرات)
- مقياس درجة الحموضة الأس الهيدروجيني ال pH
- قياس درجة الحموضة
- معايرة الاحماض والقواعد (ضبط تركيز ال pH لمادة كيميائية) باستخدام ال pH meter
- معايرة الاحماض والقواعد (ضبط تركيز ال pH لمادة كيميائية) باستخدام الزجاج او قطب الأنتيمون
- تجارب في الأسموزية والانتشار
- الأسموزية Osmosis
- الإدمصااص و التشرّب Adsorption & Imbibition
- الانتشار Diffusion
- أهمية الانتشار للنبات
- طبيعة حركة المواد Kinetic nature of matter
- إنتشار الغازات Diffusion of gases
- الضغط الأنتشاري Diffusion Pressure
- الأنتشار المستقل Independent Diffusion
- مثال لتجربة الانتشار خلال الاغشية الحية

- أنتشار السوائل
- طريقة العمل لتجربة انتشار المواد العضوية
- أنتشارالمواد الصلبة
- تجارب في الضغط الأسموزي
- الدور الذي يلعبه الضغط الاسموزي والخاصية الاسموزية في حياة النبات
- الضغط الأسموزي (O.P.) Osmotic Pressure
- تجربة الضغط الاسموزي باستخدام طريقة العالم Chard-Kov
- اختبار قدرة الاغشية الحية على التنافذ
- النفاذية Permeability
- اغشية غير منفذة(غير ناضحة) impermeability membrane
- اغشية شبه منفذة (نصف ناضحة) Semi permeability membrane
- أغشية منفذة (ناضحة) Permeability membrane
- تأثير درجة الحرارة نفاذية الأغشية البروتوبلازمية
- تأثير قيمة الأس الهيدروجيني على نفاذية الأغشية البروتوبلازمية
- النتح Transpiration
- طريقة جهاز ال Potometer
- تجربة قياس كمية النتح بطريقة Lysimeter (كمية النتح بطريقة الوزن)
- التنفس Respiration
- طرق قياس معدل التنفس
- معامل التنفس Respiratory quntient
- فصل الصبغات الضوئية بواسطة الكروماتوغرافي
- كروماتوغرافيا (Chromatography)
- الفصل باستخدام الكروماتوغرافي
- كروماتوغرافيا الامتزاز (الإدمصاص) Adsorption Chromatography
- كروماتوغرافيا التوزيع Partition Chromatography
- كروماتوغرافيا التبادل الأيوني (IEC) Ion-exchange Chromatography
- كروماتوغرافيا الغاز Gas Chromatography
- كروماتوغرافيا الورق Paper chromatography
- كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة Thin – Layer Chromatoghraphy
- كروماتوغرافيا العمود Column Chromatography
- قياس طيف الامتصاص الضوئي الفعلي لصبغات الكلوروفيل
- صبغات البناء الضوئي
- الاختلافات بين كلوروفيل a وكلوروفيل b
- الكاروتينات و الزانثوفيلات

- التقدير الكمي لصبغات الكلورفيل الكلي وكلوروفيل (b و a)
- التركيب الضوئي (تفاعل هل)
- تجربة عزل الكلوروبلاست (البلاستيدات الخضراء)
- تجربة تفاعل هل Hill Reaction
- قياس المساحة الورقية
- التقدير الكمي للبروتينات النباتية
- تجارب الهرمونات النباتية
- تجربة اختبار الانحناء لغمد الشوفان Avena coleoptile curvature test
- تجربة تنشيط النمو لنبات القمح القزمي باستخدام الجبرلين
- تجربة تقدير فعالية الساييتوكاينين على الكلوروفيل
- تجربة دور الايثيلين في الثمار الناضجة
- التغذية المعدنية للنباتات وتقدير كمية العناصر الفلزية الرماد
- التشوهات والأضرار الناتجة عن اختلال التغذية المعدنية النقص أو الزيادة بالعناصر الغذائية
- تقدير كمية العناصر الغذائية في النباتات (الأوراق ، جذور ، ثمار)
- طريقة الهضم الرطب للعينات
- تقدير النيتروجين حسب طريقة كدال باستخدام جهاز Micro-Kjeldahl
- تقدير الفسفور ، البوتاسيوم ، للمغنيسيوم ، الحديد، الزنك ، المنغنيز ، البورون

## انواع المحاليل الفسلجية وطرق تحضيراتها وتراكيزها

### المحاليل والانظمة الغروية Solutions and Colloidal Systems

الوسط المائي: هو الوسط الذي تجري فيه مختلف الفعاليات فسيولوجية ام كيميائية. ان العمليات الفسيولوجية والكيميائية تعمل في محيط سائل مخفف لمحاليل حقيقية او معلقة او غروية ، لذا تخضع جميع الفعاليات في الجسم النباتي لقوانين الفيزياء والكيمياء التي تتحكم بالمحاليل.

### طبيعة المحاليل The Nature of Solutions

وضع كمية قليلة من السكر (مادة ذائبة غير متأينة) او ملح الطعام (مادة ذائبة متأينة) في الماء نلاحظ توزع جزيئات السكر او الايونات الناتجة من الملح تدريجيا بصورة متساوية بين جزيئات الماء.

- المادة المذابة Solute هو السكر او الملح
- المادة المذيبة Solvent هو الماء
- المحلول المخفف Dilute solution ناتج الذوبان
- المحلول المشبع Saturated solution ناتج اضافة كمية اخرى من المادة المذابة في كمية محددة من الماء يصل حد لايمكن اذابة المزيد من المادة المذابة
- فوق التشبع Super saturated ناتج زيادة درجة حرارة المحلول المشبع حتى ذوبان البلورات المترسبة.

### انواع المحاليل Types of Solutions

توجد تسع انواع من المحاليل يمكن الحصول عليها باستعمال حالات المادة الثلاث (السائلة-الصلبة-الغازية) هذه الحالات التسعة

- سائل في سائل او في صلب او في غاز
- غاز في غاز او في صلب او في سائل
- صلب في صلب او في سائل او في غاز

### انواع المحاليل بالنسبة لتركيزها وطرق تحضيرها

تركيز المحلول: هو كمية مادة في وحدة الحجم او الوزن . لتحضير المحاليل بتراكيز مختلفة يستعمل الوزن الجزيئي الغرامي Gram Molecular Weight وهو يحوي نفس العدد من الجزيئات المكونة لها ويطلق عليه عدد افوكادرو. تستعمل المختبرات قياسات مختلفة منها:

### 1- المحاليل الجزيئية الغرامية (المولارية) (M) Molar Solutions

يعرف المحلول المولاري بأنه مقدار اذابة وزن جزيئي غرامي واحد لمادة قابلة للذوبان بالماء ويكمل الحجم الى لتر واحد من الماء ويرمز له (1M).

مثال: سكر القصب وزنه الجزيئي الغرامي 312.3 فعند اذابة 312.3 غرام في كمية ماء مقطر كافية ثم يكمل المحلول الى 1 لتر فتركيز المحلول الناتج يكون 1M. قانون حساب لمولارية (M):

$$wt=(v/1000)\times M\times M.Wt$$

=wt = وزن المذاب بالغرام ، v = حجم المحلول باللتر (اما اذا كان الحجم ب ml يقسم على 1000) ، M = المولارية ، M.Wt = الوزن الجزيئي للمذاب

مثال: حضر محلول 1M من NaOH بحجم 250ml علما ان الازان الذرية هي : (H=1 , O=16, Na=23)

الجواب: الوزن الجزيئي = مجموع الازان الذرية = 40=23+1+16

$$wt=(v/1000)\times M\times M.Wt$$

$$wt=(250/1000)\times 1\times 40=10$$

ناخذ 10g من ال NaOH ويكمل الحجم الى النهائي بالماء المقطر لحد 250ml

ملاحظة : قسم على 1000 لان الحجم بالملي لتر ml

مثال: حضر محلول 0.5M من NaOH بحجم 5L علما ان الوزن الجزيئي =40

$$Wt = 5\times 0.5\times 40=100g$$

ناخذ 100g من ال NaOH ويكمل الحجم الى النهائي بالماء المقطر لحد 5L

ملاحظة : لم يقسم على 1000 لان الحجم باللتر L

## 2- محاليل المولال (المولالية) (m) Molal Solutions

لغرض الحفاظ على عدد ثابت من جزيئات المذيب تستعمل محاليل المولال فيحتوي المحلول المولال على غرام وزن جزيئي واحد مذاب بلتر واحد من الماء المقطر.

## 3- محاليل العيارية (N) Normal Solutions

هو ذلك المحلول الذي يحتوي على غرام واحد من الوزن المكافئ للمادة المذابة في لتر واحد من المحلول وتحسب:

$$wt=(v/1000)\times N\times EW$$

=wt = وزن المذاب بالغرام ، v = حجم المحلول باللتر ، N = العيارية للمحلول ، EW = الوزن المكافئ للمادة بالغرام

#### 4- محاليل الجزء بالمليون (ppm) Part Per Millions

وتسمى ايضا ملغم/لتر او ملغم.لتر<sup>-1</sup> هو اذابة 1 ملغم (1mg) من المادة في الماء المقطر ويكمل الحجم الى (1 لتر) يعطي تركيز 1ppm.

اما في حالة اذا اذيب 1 غم (1g) او (1000 ملغم) من المادة في الماء المقطر ويكمل الحجم الى 1 لتر يعطي تركيز 1000 ppm .

الحجم المحلول (v) ويشمل (L, ml, µl) ، الوزن بالغرام (mg, g, Kg) ، المولية (M)

$$1 \text{ ملغرام} = 1 \text{ ملغم} = 1 \text{ mg}$$

$$1 \text{ غرام} = 1000 \text{ ملغم} = 1000 \text{ mg}$$

$$1 \text{ كيلوغرام} = 1 \text{ كلغم} = 1000 \text{ g} = 1 \text{ Kg}$$

$$\text{غم} / \text{لتر} = \text{غم} \cdot \text{لتر}^{-1} = \text{g/L}$$

$$\text{ملغم} / \text{لتر} = \text{ملغم} \cdot \text{لتر}^{-1} = \text{mg/L} = \text{ppm} = \text{جزء بالمليون}$$

$$1 \text{ مللتر} = 1 \text{ ملل} = 1 \text{ ml}$$

$$1 \text{ لتر} = 1 \text{ L} = 1000 \text{ مللتر} = 1000 \text{ ملل} = 1000 \text{ ml} = 1 \text{ Kg}$$

$$1000 \text{ µl (Microliters)} = 1 \text{ ml (Milliliters)}$$

#### 5- محاليل النسبة المئوية Percent Solutions

- نسبة حجم الى وزن (w/v)

مثال: محلول تركيزه (1%) (w/v) هو اذابة 1g من المذاب في المذيب يكمل الى 100ml.

- نسبة وزن الى وزن (w/w)

مثال: محلول تركيزه (1%) (w/w) هو اذابة 1g من المذاب في 99g من المذيب يكون الوزن النهائي 100g.

- نسبة حجم الى حجم (v/v)

مثال: محلول تركيزه (1%) (v/v) هو اذابة 1ml من المذاب في المذيب 99ml حيث يكون الحجم النهائي 100ml.

## تخفيف المحاليل Dilution of solutions

قانون التخفيف بالماء هو

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

M = المولارية

V = الحجم

حجم المحلول × تركيزه (قبل التخفيف) = حجم المحلول × تركيزه (بعد التخفيف)

التخفيف بمحلول من نفس النوع يطبق القانون التالي

حجم المحلول الاول × تركيزه ÷ حجم المحلول الثاني × تركيزه = حجم المحلول النهائي × تركيزه

التخفيف بمحلول مختلف

لإيجاد التركيز للمحلول الاول في المحلول الكلي يطبق القانون التالي

حجم المحلول × تركيزه (قبل) = حجم المحلول × تركيزه (بعد)

لإيجاد التركيز للمحلول الثاني في المحلول الكلي يطبق القانون التالي

حجم المحلول × تركيزه (قبل) = حجم المحلول × تركيزه (بعد)

مثال : حضر محلول 0.25N من ال NaOH بحجم 200ml من المحلول الاصيلي ال Stock تركيزه 2N.

الجواب: نطبق قانون التخفيف

$$N1 \times V1 = N2 \times V2$$

$$2 \times V1 = 0.25 \times 200 / 1000$$

$$V1 = 0.25 \times 0.2 / 2 = 0.025L = 25ml$$

ناخذ 25ml من المحلول الاصيلي ويكمل الحجم الى 200ml باستخدام الماء المقطر

ملاحظة: اذا كان حجم المحلول ب ml يقسم على 1000 اما اذا كان ب L فلا يقسم

انواع البفرات وقياس قيمة pH واهميتها الفسلجية

تعريف المحلول المنظم (البفري) Buffer Solution

هي المحاليل التي تقاوم التغير في الرقم الهيدروجيني pH عند إضافة كميات قليلة من الأحماض أو القواعد القوية أو عند تخفيفها، وهي عبارة عن محلول لحامض ضعيف وأحد أملاحه أو قاعدة ضعيفة وأحد أملاحها. ومن امثلتها:

1- Tris Buffer 2- محلول الكاربونات الملطف Carbonate Buffer 3- محلول السترات الملطف Citrate Buffer 4- محلول الفوسفات الملطف Phosphate Buffer 5- محلول الخلات الملطف Acetate Buffer

ملاحظة: ماء البحر يقاوم التغير في قيمة الرقم الهيدروجيني وذلك لوجود أملاح ذائبة فيه بينما الماء المقطر لا يصلح ان يكون محلولاً منظماً وذلك لانه لا يقاوم التغير في قيمة الرقم الهيدروجيني عند إضافة الحامض تتغير قيمة pH من 7: 4 وعند إضافة القاعدة تتغير قيمة pH من 7: 11

### تتكون المحاليل المنظمة (البفرات) من:

اولاً: قاعدة ضعيفة (قاعدة مقترنة) + ملح القاعدة الضعيفة (الحامض المرافق للقاعدة "الحامض المقترن")  
حيث يحضر المحلول المنظم من مزيج من محلولي قاعدة ضعيف + ملح القاعدة الضعيفة ذات الشق الحمضي القوي، ال pH < 7 ويفضل استخدام هذه المحاليل المنظمة في الاوساط القاعدية مثلاً:

1. مزيج من محلول الأمونيا (هيدروكسيد الأمونيوم) + كلوريد الأمونيوم .
2. مزيج من محلول الأمونيا (هيدروكسيد الأمونيوم) + كبريتات الأمونيوم.
3. مزيج من محلول الأمونيا (هيدروكسيد الأمونيوم) + نترات الأمونيوم .

محاليل منظمة قاعدية		
ملح القاعدة الضعيفة	القاعدة الضعيفة	
NH <sub>4</sub> Cl	NH <sub>3</sub>	امونيا وكلوريد الامونيوم

ثانياً: حامض ضعيف (حامض مقترن) + ملح الحامض الضعيف (القاعدة المرافقة للحامض "القاعدة المقترنة")

- حيث يحضّر المحلول المنظم من مزيج من محلولي حامض ضعيف + ملح الحامض الضعيف ذات الشق القاعدي القوي ، ال pH > 7 ويفضل استخدام هذه المحاليل المنظمة في الاوساط الحامضية مثلاً
- 1- مزيج من حامض الإيثانويك + إيثانات الصوديوم أو البوتاسيوم.
  - 2- مزيج من حامض الميثانويك + ميثانات الصوديوم أو البوتاسيوم.
  - 3- مزيج من حامض الأكساليك + أكسالات الصوديوم أو البوتاسيوم.
  - 4- مزيج من حامض البنزويك + بنزوات الصوديوم أو البوتاسيوم .

ملاحظة: المحلول الذي يحتوي على اي من هذين المادتين المترافقتين في اولا و ثانيا محلول منظم

محاليل منظمة حامضية		
ملح الحامض الضعيف	الحامض الضعيف	
KNO <sub>2</sub>	HNO <sub>2</sub>	حامض النيتروز
NaCN	HCN	حامض السيانيد

$\text{HCO}_3^-$	$\text{H}_2\text{CO}_3$	حامض الكربونيك
$\text{CH}_3\text{COO}^-$	$\text{CH}_3\text{COOH}$	حامض الأسيتيك

### كيف يعمل المحلول المنظم (البفري)

الحالة الاولى : دراسة أثر إضافة قاعدة NaOH إلى المحلول المنظم:

- 1- إضافة قاعدة NaOH يعني إضافة  $\text{OH}^-$  والتي تتفاعل مع  $\text{H}_3\text{O}^+$  في المحلول فيختل الاتزان.
- 2- وفقاً لمبدأ لوتشاتلييه سينزاح التفاعل (1) نحو اليمين بتفكك المزيد من  $\text{CH}_3\text{COOH}$  فيتم تعويض النقص في  $\text{H}_3\text{O}^+$  فيبقى تركيزها ثابتاً تقريباً ، وبالتالي تبقى قيمة pH للمحلول ثابتة تقريباً .

الحالة الثانية : دراسة أثر إضافة حامض HCl إلى المحلول المنظم:

- 1- إضافة HCl يعني إضافة  $\text{H}^+$  وبالتالي زيادة تركيز  $\text{H}_3\text{O}^+$  في المحلول فيختل الاتزان.
- 2- وفقاً لمبدأ لوتشاتلييه سينزاح التفاعل (1) نحو اليسار بتفاعل  $\text{H}_3\text{O}^+$  الزائدة مع  $\text{CH}_3\text{COO}^-$
- 3- نتيجة انزياح التفاعل (1) نحو اليسار سيؤول تقريباً أثر الزيادة في تركيز  $\text{H}_3\text{O}^+$  الناتجة من إضافة الحامض HCl وبالتالي تبقى قيمة pH للمحلول ثابتة تقريباً

### تفسير عمل المحلول المنظم (البفري)

- مزيج من محلولي حامض الإيثانويك ( الأسيتيك ) وإيثانوات الصوديوم يقاوم التغير في pH عند إضافة حامض أو قاعدة إليه .  
عند إضافة حامض تتفاعل أنيونات الإيثانوات للملح مع كاتيونات الهيدروجين للحامض المضاف مكونة حامض الإيثانويك ضعيف التآين فيقل التأثير للحامض المضاف .  
عند إضافة قاعدة : ( $\text{OH}^-$ ) يتفاعل حامض الإيثانويك مع أنيونات الهيدروكسيد ( $\text{OH}^-$ ) مكونا الماء ضعيف التآين وبالتالي يقل تأثير القاعدة المضافة .
- مزيج من محلول الأمونيا ( هيدروكسيد الأمونيوم ) و كلوريد الأمونيوم يقاوم التغير في pH عند إضافة حامض أو قاعدة إليه .  
عند إضافة حامض ( $\text{H}^+$ ) : يتحد هيدروكسيد الأمونيوم مع كاتيونات الهيدروجين الحامض المضاف مكونا الماء ضعيف التآين فيقل تأثير الحامض المضاف .  
عند إضافة قاعدة : ( $\text{OH}^-$ ) تتحد كاتيونات الأمونيوم مع أنيونات الهيدروكسيد مكونا جزيئات الأمونيا وماء ضعيف التآين فيقل تأثير القاعدة المضافة .

### الاهميتها الكيميائية المنظمة (البفرات):

- يتطلب الكثير من العمليات الكيميائية والحيوية أن لا تتغير قيمة pH لوسط التفاعل كثيراً بل تبقى قريبة من قيمة معينة. ومثال ذلك أن الدم في جسم الإنسان لا يمكن أن يقوم بوظيفة نقل الأكسجين إلى الخلايا إلا أن تكون قيمة pH=7.4 وللمحاليل المنظمة أهمية كبيرة في التجارب الكيميائية فمثلا
- 1- معالجة التربة لنمو المحاصيل المختلفة

- 2- ومعايرة جهاز قياس الأس الهيدروجيني ال pH.
- 3- هذه المحاليل تستخدم في التجارب الكيميائية الحيوية حيث ان بعض التفاعلات تتطلب ان يكون ال pH قيمة يتم التحكم بها بدقة

#### الاهميتها الفسلجية للمحاليل المنظمة (البفرات):

1. تلعب المحاليل البفرية دورا هاما في جسم النبات حيث تحافظ على قيمة ال pH اللازمة للنشاطات الحيوية للخلايا الحية في حدود ثابتة ومعينه
2. ويوجد في جسم النبات عدد كبير من المحاليل البفرية كالمحاليل الحاوية على الكربونات او الفوسفات اضافة الى البروتينات ذات التفاعل الامفوتيري والتي بفضلها لاتتغير قيم ال pH في هذه الخلايا الا في حدود ضيقه لاتؤثر على مجرى النشاط الحيوي للنبات.
3. أن الأنزيمات تحتاج لوسط تكون فيه قيمة pH ثابتة تقريبا لتعمل بنشاط. فان تغيرات ال pH للمحلول فان هذه الانزيمات ستفقد او سيتغير شكلها وربما تفقد وظيفتها الحيوية.
4. تحتوي السوائل الموجودة داخل وخارج الخلية في الكائنات الحية على ازواج الاحماض والقواعد المترادفة لها والتي تسلك سلوك المحاليل المنظمة.
5. معظم التفاعلات الفسيولوجية الجارية في الانسجة النباتية تحدث في اوساط تتصف بأنها تشبه محلول البفر

#### مقياس درجة الحموضة الأس الهيدروجيني ال pH

يعرف رمز ال pH باسم الأس الهيدروجيني، أو بدرجة الحموضة، أو بالقوة الهيدروجينية، وهو القياس الذي يحدد ما إذ كان السائل قاعدياً أو حمضياً أو متعادلاً، حيث تعتبر السوائل ذات درجة حموضة عالية في حال كانت أعلى من 7، بينما تعتبر ذات درجة حموضة منخفضة في حال كانت أقل من 7، ولا بد من الإشارة إلى إمكانية معرفة درجة حموضة أي محلول من خلال استخدام مؤشر الرقم الهيدروجيني.

فالرقم الهيدروجيني هو القيمة الرياضية التي يتم احتسابها من خلال معادلة لوغاريتمية وهي المقياس والمؤشر على حامضية المادة أو قاعدتها. ويعرف سورنسون الرقم الهيدروجيني بأنه اللوغارتم السالب لتركيز ايون الهيدروجين المولاري اي ان:

$$pH = -\log [H]$$

والمقاس هنا التركيز الفعال، ولكن للتسهيل يستخدم التركيز المولاري ، ويمكن اشتقاق قيمة ال pH للماء كما يلي:  
من معادلة الحاصل الايوني للماء :

$$K_w = [H^+][OH^-]$$

$$\text{Log } K_w = \text{log } [H^+] + \text{log } [OH^-]$$

$$-\text{log } K_w = -\text{log } [H^+] + (-\text{log } [OH^-])$$

ولكن  $-\text{log} = p$  اذا :

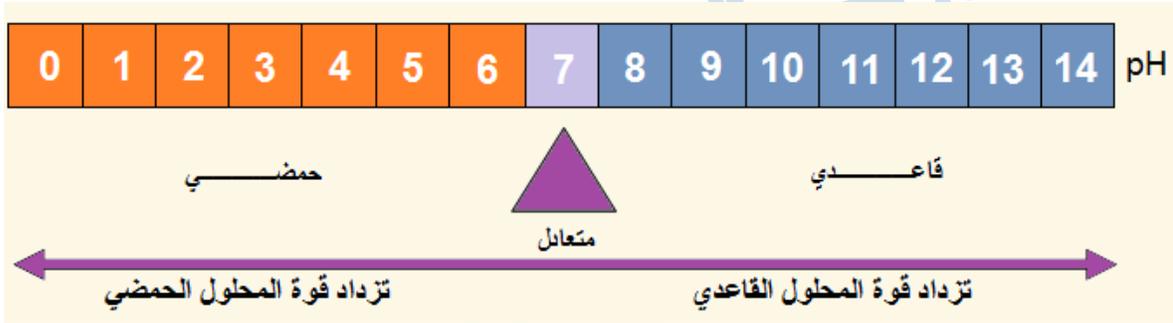
$$PK_w = pH + pOH$$

$$pH = pOH = -\text{log } 10^{-7}$$

$$pH = pOH = 7$$

ولهذا فان الماء متعادل واذا كان الوسط حامضيا فان الرقم الهيدروجيني سيقبل عن 7 ، اما اذا كان الوسط قاعديا فان الرقم الهيدروجيني سيزداد عن 7.

- وهناك ثلاث حالات بالنسبة لقيمة الرقم الهيدروجيني ال pH وتشمل
- 1- الماء المقطر فتبلغ قيمة pH لها (7)، أي أنه يُعتبر متعادلاً وفق هذا المقياس لأن تركيز أيونات  $\text{OH}^-$  مساو لتركيز أيونات  $\text{H}^+$
  - 2- المحاليل القاعدية تمتلك قيمة pH أكبر من (7)، وكلما زادت قيمة pH للقاعدة زادت قوتها.
  - 3- فالمحاليل الحمضية تمتلك قيمة pH أقل من (7)، وكلما قلت قيمة pH للحامض زادت قوتها



درجة الحموضة مقياس مدرج من 0 إلى 14 ويُعبّر عن تركيز أيونات  $\text{H}^+$  وأيونات  $\text{OH}^-$  في المحلول

تعتمد قيمة pH للمحلول على تركيز كل من أيون الهيدروجين الموجب $\text{H}^+$ وأيون الهيدروكسيد السالب $\text{OH}^-$		
المحلول القاعدي	المحلول المتعادل	المحلول الحامضي
يكون تركيز ال $\text{H}^+ < \text{OH}^-$ وقيمة ال pH أكبر من 7	يكون تركيز ال $\text{H}^+ = \text{OH}^-$ وقيمة ال pH يساوي من 7	يكون تركيز ال $\text{H}^+ > \text{OH}^-$ وقيمة ال pH اقل من 7

### قياس درجة الحموضة

تقاس درجة الحموضة ال pH لجميع المحاليل بواسطة:

1. الكاشف العام : كاشف يتغير لونه تدريجياً، بتغير قيمة الرقم الهيدروجيني للمحلول
2. ال pH meter : وهو جهاز قياس الرقم الهيدروجيني وهو أكثر دقة من الكاشف العام.



pH meter



الكاشف العام

### معايرة الاحماض والقواعد (ضبط تركيز ال pH لمادة كيميائية) باستخدام ال pH meter

1. في حالة وجود محلول يحتوي حموضة pH معينة واردا ان نزيد تركيز ال pH نقوم باضافة قاعدة ضعيفة مثلا اضافة قطرات من قاعدة ضعيفة مثل 0.1 N من NaOH ثم يقاس المحلول بواسطة ال pH meter لحين الحصول على قيمة ال pH المطلوبة
2. اما اذا اردنا تقليل ال pH لهذا المحلول فأنا نضيف قطرات من حامض ضعيف مثل 0.1 N من HCl ثم يقاس المحلول بواسطة ال pH meter لحين الحصول على قيمة ال pH المطلوبة

### معايرة الاحماض والقواعد (ضبط تركيز ال pH لمادة كيميائية) باستخدام الزجاج او قطب الأنتيمون

معايرة الاحماض والقواعد ، باستخدام قطب الزجاج او قطب الأنتيمون وتسمى ايضا معايرات ال pH ففي هذا النوع يتم تتبع التغير في تركيز ايونات الهيدروجين. والتغير في درجة الحموضة pH يمكن تتبعه باستخدام قطب الهيدروجين الزجاجي مدمج معه القطب المرجع مثل قطب الكالوميل حيث يمكن معايرة الاحماض القوية والضعيفة بمحلول قاعدي قياسي في المحاليل المائية ، وكذلك يمكن معايرة القواعد بمحاليل احماض قياسية حيث يمكن قياس ال pH بعد كل اضافة من السحاحة ثم يتم رسم ال pH كمحور صادي مع الحجم المضاق من السحاحة كمحور سيني ويرسم المنحني ومن النقطة التي يغير فيها المنحني اتجاهه وتقع في منتصف الجزء الحاد نستطيع تعين نقطة النهاية ومن ثم تعيين تركيز المحلول المراد تحليله.

### تجارب في الأسموزية والانتشار

#### الأسموزية Osmosis

هي نوع خاص من الإنتشار ذو علاقة بحركة الماء خلال غشاء شبه نفّاذ .

ان الخلية محاطة بجدار سيلوزي منفذ لاغلب انواع المحاليل الغروية في الخلية النباتية فجوة عصارية او اكثر بمحاليل نشطة اسموزيا (املاح وسكريات) ويحاط بروتوبلازم الخلية بغشائين بلازميين احدهما مبطن للفجوة العصارية يسمى غشاء الفجوة Vacuolar membrane والاخر مبطن لجدار الخلية يسمى Plasma membrane وهي اغشية ذات نفاذية انتخابية مشابهة في سلوكها الى اغشية نصف ناضجة الصناعية. لذلك يمكن اعتبار الخلية النباتية كنظام اسموزي Osmotic system ففي النظام الاسموزي ينتقل الماء من المحاليل ذات التركيز المنخفض للمذاب الى المحلول الاكثر تركيز فاذا كان تركيز العصير الخلوي اقل من تركيز المحلول خارج الخلية فان الاسموزية تنعكس في هذه الحالة أي ان الماء ينتقل من فجوة العصارية الى الخارج خلال الاغشية البلازمية ونتيجة لذلك فان الخلايا تنكمش عن حجمها الاصلي وايضا ينكمش السايوتوبلازم عن صورته الاصلية وتسمى هذه الظاهرة بالبلزمة Plasmolysis وان البلزمة نوعان: بلزمة الدائمة Permanent plasmolysis وبلزمة مؤقتة Temporary plasmolysis (وقد ذكرت بالجزء النظري)

**مثال 1/** لتجربة ظاهرة الاسموزية المواد اللازمة للتجربة وهي : ماء مقطر ، ملح الطعام ، درنات البطاطا ، ملح الطعام ، طبق بترى Petri dish او بيكر او اي صحن يتوفر في المختبر

طريقة العمل: تقشر احد درنات البطاطا ثم اعمل منها ثلاثة مكعبات متساوية الحجم وعمل حفرة صغيره عل السطح العلوي منه حيث نترك المكعب الاول فارغ ونضع في المكعب الثاني كميته قليله من ملح الطعام وضع في المكعب الثالث كميته اكبر من ملح الطعام. تنقل المكعبات الثلاثة الى ثلاث اطباق بترى حيث

- 1- يوضع المكعب الاول في طبق بترى حاوي على ماء مقطر
- 2- يوضع المكعب الثاني في طبق بترى فارغ
- 3- يوضع المكعب الثالث في طبق بترى يحتوي نصف ارتفاع المكعب تقريبا كميته من الماء المقطر.

ستلاحظ هناك اختلاف في كمية الماء الموجود داخل الحفرة الخاليه والحفرة التي بها قليل ثم كثير (المكعبات الثلاثة على التوالي). ستلاحظ المكعب الفارغ الاول الموضوع في الماء المقطر منتفخا. بينما المكعب الثاني الحاوي على كميته قليله من ملح الطعام ذابلاً. والمكعب الثالث الحاوي على كمية اكبر من ملح الطعام اكثر ذبولاً. وتعليل هذه الظاهرة هي انتقال الماء من المحلول الاقل تركيز الى المحلول الاعلى تركيز وبالتالي حدوث ظاهرة الذبول في البطاطا

**مثال 2/** لتجربة ظاهرة الاسموزية المواد اللازمة للتجربة هي : اوراق الحرشفية للبصل ، ماء مقطر ، NaCl  
**طريقة العمل :**

1. انزع الاوراق الحرشفية للبصل وقطعها الى ثلاث اجزاء.
2. ضع جزء في محلول (20%) NaCl والجزء الثاني في محلول (10%) NaCl والجزء الثالث في ماء مقطر لمدة عشر دقائق.
3. افحص تحت المجهر ولاحظ التغيرات في الغشاء البلازمي.

في حالة وضع هذه الخلية في محلول مخفف او ماء فان الماء ينتقل الى داخل الخلية عبر الاغشية العصارية ويعود السايوتوبلازم و الخلية الى شكلها الاصلي وتسمى هذه الحالة الشفاء من البلزمة healing يسمى هذا النوع من

المحاليل بمحلول منخفض السموزية Hypotonic Solution اما اذا كان المحلول الخارجي الذي يحيط بالخلية ذات تركيز مساوي لتركيز العصير الخلوي فأن هذا المحلول يسمى سوي التركيز Isotonic Solution اما اذا كان تركيز المحلول الخارجي أعلى من تركيز العصير الخلوي فأن هذا المحلول يسمى محلول فوق التركيز Hypertonic Solution. وهو المحلول الذي يسبب الاسموزية.

## الإدمصاص و التشرّب Adsorption & Imbibition

أن جزءاً قليلاً من الماء في أنسجة النبات غير الجاف يكون مُدمصاً لسطوح جدران الخلية وأجزاء الخلية والجزيئات والأيونات. مادة النبات الجافة أيضاً تدمص جزيئات الماء من الأشياء المحيطة بها وهذه عملية بايولوجية مهمة ، كما هي الحال في البذور الموضوعة في التربة ، حيث تدمص الماء بسرعة من الوسط المحيط بها فتخترق جزيئات الماء المساحات الخلوية الداخلية لجدار الخلية وأجزاء الخلية الأخرى وهذا يعود إلى قوى الأدمصاص حيث تؤدي هذه القوى إلى إنتفاخ البذور. إن هذا النوع من الإمتصاص للماء يجهز البذور بالماء الذي تحتاجه بعملياتها الكيميائية الحيوية والتي بدورها تسبب الإنبات Germination .

يمكن إعتبار التشرّب نوعاً خاصاً من الأنتشار، حيث إن حركة الماء هي في اتجاه التدرج الأنتشاري ويمكن بواسطتها دخول الماء إلى النبات. فإذا وضعنا مادة نباتية جافة في الماء يحدث إنتفاخ ملحوظ يؤدي في بعض الأحيان إلى زيادة كبيرة في الحجم.

**مثال :** يتكون ضغط هائل عند وضع عصي خشبية جافة في شق صغير في صخرة ثم غُمِرت بالماء ، يتكون ضغط كافي لتحتيم الصخرة.

الشروط الضرورية للتشرّب:

- 1- وجود فرق في الجهد المائي بين المادة الشاربية للماء و السائل المتشرب.
  - 2- وجود ألفة بين مكونات المادة الشاربية للماء والماء المتشرب.
- \* ليس من الضروري للمادة الشاربية للماء أن تتشرب كل أنواع السوائل. فمثلاً المادة النباتية الجافة المغمورة في الإيثر لا تنتفخ بقدر كبير، إلا أن المطاط شارب جيد للإيثر و ينتفخ بمقدار كبير.

## الانتشار Diffusion

يعرف أانتشار على انه محاولة توزيع دقائق المادة في أحييز الموجودة فيه توزيعاً منتظماً بفعل طاقتها الحركية حيث يصبح عدد الجزيئات في وحدة الحجم ثابت في جميع انحاء أحييز وتعرف هذه الحالة بحالة الأتزان بالنسبة للمادة المنتشرة فألانتشار يعبر عن حركة الدقائق في اتجاه معين بحيث يحصل ازدياد في عدد الدقائق في ذلك الاتجاه وتكون محصلة الأنتشار في منطقة ذات الطاقة الحركية عالية(تركيز عالي) إلى منطقة ذات طاقة الحركية واطئة (تركيز المادة واطئ) ويطلق على القوة المسببة للأنتشار kinetic energy فالانتشار صفة من صفات المادة ناشئ عن الطاقة الحركية لدقائقها وهو ينطبق على المادة المذابة في المحلول وعلى المذيب في إن واحد حيث تنتشر المواد بصورة مستقلة عن بعضها البعض بفعل الطاقة الحركية لكل منها.

## أهمية الانتشار للنبات

أن النبات يحتاج خلال مراحل نموه المختلفة الى مواد تتمثل بالجزيئات أو العناصر الكيميائية الموجودة في التربة أو الهواء حيث تدخل العناصر إلى النبات على شكل ايونات موجبة او سالبة او جزيئات بعضها يدخل عن ريق الاجزاء الخضرية وبعضها عن طريق الجذور فمثلا يدخل  $CO_2$  عن طريق الثغور اما الماء والايونات الموجبة والسالبة للمعادن فتنتقل من التربة الى النبات عن طريق الجذور ثم تنتقل الى باقي أجزاء النبات حيث تشارك في العمليات المختلفة، كذلك فإن النبات يفقد بعض من هذه المواد الى المحيط الخارجي عن طريق بعض العمليات الفسلجية التي تعتمد على مبدأ الانتشار، مثل فقد الماء من الجزء الخضري على شكل سائل او بخار مائي وطرح ثاني اوكسيد الكربون والاكسجين وكذلك المواد المتطايرة.

## طبيعة حركة المواد Kinetic nature of matter

عند درجات الحرارة الأعلى من الصفر المطلق كل مكونات المادة تكون في حركة وهذا يعني أن هذه المواد تحمل مقداراً معيناً من الطاقة وظيفتها الحركة. kinetic energy هذه الحركة هي عشوائية حيث تتحرك الجزيئات أو الذرات في كل الإتجاهات مصطدمة ببعضها في كثير من الأحيان . لو إعتبرنا الهواء الذي نستنشقه وهو بصفة رئيسية خليط من جزيئات النيتروجين ، الأوكسجين و ثاني أوكسيد الكربون ، هذه الجزيئات ذات حركة عشوائية مستمرة وتصطدم ببعضها من حين لآخر. جزيئات النيتروجين أكثر وفرة من جزيئات الأوكسجين، جزيئات  $CO_2$  نادرة للغاية حيث لا يتجاوز تركيزها في هذا الخليط أكثر من 0.03% هذه الأنواع الثلاثة من الجزيئات مختلفة بتجانس في الجو . تنتشر جزيئات العطر بين جزيئات الهواء وتختلط في النهاية بتجانس. عند إنتهاء تبخر العطر تنتشت جزيئاته بالكامل بين جزيئات الهواء وتتكون منظومة ديناميكية جديدة. تشمل جزيئات النيتروجين، الأوكسجين،  $CO_2$  والعطر متحركة عشوائياً.

## إنتشار الغازات Diffusion of gases

مثال : إذا كُسرت قنينة من البرومين تحت ناقوس زجاجي مُفَرَّغ جزئياً من الهواء تملأ جزيئات البرومين في الحال الفضاء الذي تحت الناقوس ، وهذا من السهل مُشاهدته نظراً للون البني المحمر المميز لغاز البرومين ، يختلف الأمر إذا لم يكن الفضاء مفرغاً من الهواء. حيث تؤدي جزيئات الهواء إلى تباطؤ سرعة إنتشار غاز البرومين.

## الضغط الأنتشاري Diffusion Pressure

أن وزن الغاز (الهواء) فوق سطح الزئبق الموضوع في طبق كافٍ لدفع عمود من الزئبق في انبوبة زجاجية إلى اعلى ليصل إلى ارتفاع 760 ملم.

## الانتشار المستقل Independent Diffusion

أن اتجاه انتشار مادة ما يحدده كلية الفروقات في الضغط الانتشاري لتلك المادة ومستقل كليا عن الضغوط الانتشارية للمواد المحيطة .

**مثال:** عند نفخ منطاد بغاز النيتروجين ، حيث أن جدران المنطاد المطاطية هي نسبياً غيرمنفذة للنيتروجين ، النيتروجين المحصور في المنطاد سيكون له ضغط انتشاري أعلى نسبياً. أما  $CO_2$  فعلى النقيض من النيتروجين حيث يمكن أن يمر بسهولة من خلال جدار مطاطي، إذا سُمح للبالون المملوء بالنيتروجين أن يستقر في الهواء ، فإن  $CO_2$  الموجود في الهواء سينتشر في البالون حتى يحدث التعادل. ينتشر  $CO_2$  في المنطاد لأن ضغطه الانتشاري في الهواء أكثر من ضغطه الانتشاري في المنطاد و الذي كان صغيراً. أن انتشار  $CO_2$  إلى الداخل يحدث بالرغم من أن الضغط الانتشاري لغاز النيتروجين المحصور في البالون هو أعلى بكثير من الضغط الانتشاري ل  $CO_2$  في الهواء.

**مثال لتجربة الانتشار خلال الاغشية الحية في هذه التجربة نحتاج الى :** ماء مقطر ، قطاره ، محلول أحمر متعادل Neutral red أو اي صبغة اخرى متوفرة في المختبر ، قطعة من ثمارة البصل ، مجهر، سلايدات ، ورق نشاف ، طبق بتري Petri dish او بيكر او اي صحن يتوفر في المختبر

**طريقة العمل:** نأخذ جزء صغير من البشرة الداخلية لحراشف البصل ثم نوضع في الطبق البتري حاوي على محلول احمر متعادل ويترك لمدة عشر دقائق ثم يغسل الجزء الصغير جيدا بواسطة الماء المقطر، وعند فحص هذا الجزء بواسطة المجهر نلاحظ اصطباج الخلايا ثم مقارنة مع قطعة اخرى غير معاملة بالصبغة.

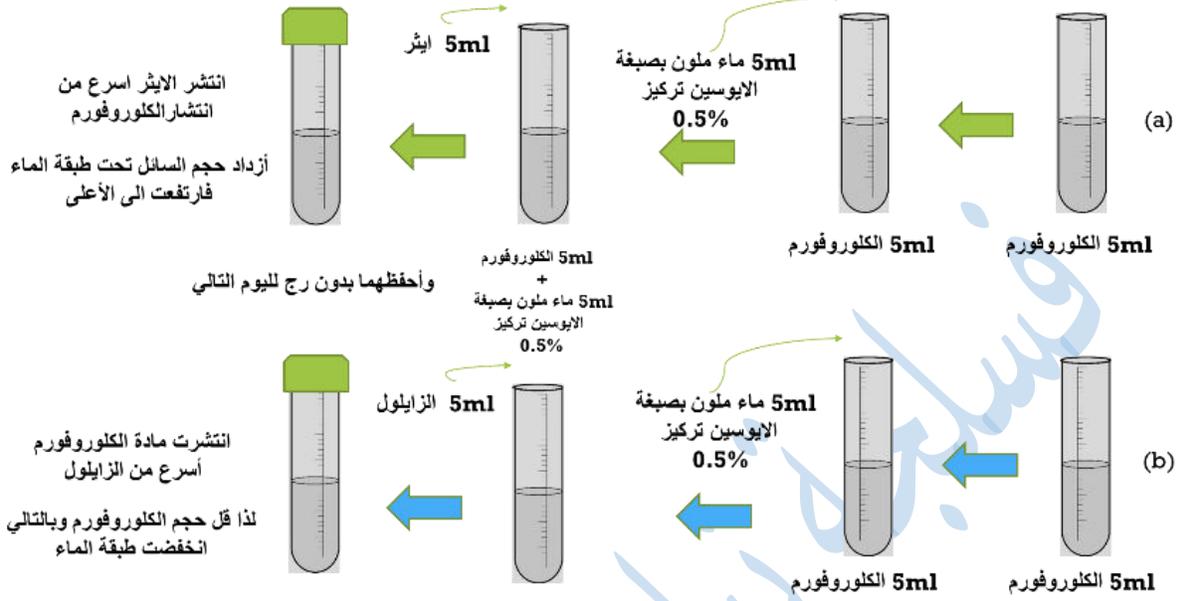
## انتشار السوائل

أن معدل انتشار المواد العضوية السائلة مثل الايثر والزايلول والكلوروفورم يعتمد بصفة اساسية على قابليتها للذوبان في الغشاء المائي (وسط الانتشار) التي يفصل بينها ، فكلما كان معدل ذوبان المادة العضوية وأمتزاجها بالماء عالي كلما كان معدل انتشارها كبير والعكس صحيح.

## طريقة العمل لتجربة انتشار المواد العضوية

- 1- خذ أنبوبي اختبار نظيفتين وضع في كل منها 5ml من مادة الكلوروفورم.
  - 2- اسكب بحذر وهدوء بواسطة ماصة على الجدار الداخلية لكل من الانبوبيتين 5ml ماء ملون بصبغة الايوسين تركيز 0.5%.
  - 3- اضف بحذر وهدوء الى الانبوبة 5ml من مادة الايثر والى الثاني 5ml من مادة الزايلول. أشر بقلم على موضع الطبقة المائية الملونة من سطحها العلوي والسفلي.
  - 4- سد فوهتي الأنبوبيتين بأحكام بسداد من الفلين لمنع تبخر المواد العضوية ، وأحفظهما على حامل بدون رج اليوم التالي.
- في اليوم التالي ستلاحظ إن طبقة الماء الملونة في الانبوبة الاولى ارتفعت بينما أنخفضت في الانبوبة الثانية. ففي الأنبوبة الأولى انتشر الايثر أسرع من انتشار الكلوروفورم لنفس الأنبوبة ، لذا أزداد حجم السائل تحت طبقة الماء فارتفعت الى الأعلى.
- في الأنبوبة الثانية فقد انتشرت مادة الكلوروفورم أسرع من الزايلول ، لذا قل حجم الكلوروفورم وبالتالي انخفضت طبقة الماء.

يستنتج من هذه التجربة إن الايثر أكثر المواد الثلاثة انتشارا في الماء يليه الكلوروفورم ومن ثم الزييلول.



### انتشار المواد الصلبة

يعتمد معدل انتشار المواد الصلبة على قابلية ذوبانها في الوسط الموجودة فيه، فكلما كانت قابلية الذوبان كبيرة كلما كان معدل الانتشار أسرع، كذلك يعتمد على حجم وكتلة الدقائق فكلما كانت الدقائق صغيرة كلما كان معدل انتشارها أسرع. مثل انتشار بلورات السكر في الماء أو انتشار بلورات برمنجنات ألبوتاسيوم في الماء.

### تجارب في الضغط الأسموزي

تمتلك جميع المحاليل جهد أسموزي يمكن ان يعبر عنه بوحدات الضغط السالبة وتكون قيمة الجهد الأسموزي للماء النقي الذي يساوي صفر. ويمكن حساب الجهد الأسموزي للخلية تحت ظروف يكون فيها الضغط الانتفاخي يساوي صفر وهذا يتفق في حالة البلزمة. ويمكن اعتماد الحالة التي يكون فيها ما يقارب 50% من الخلايا في حالة بلزمة ابتدائية حيث في هذه الحالة يكون الجهد الأسموزي للخلية مساويا للجهد الأسموزي للمحلول المغمور فيه.

### الدور الذي يلعبه الضغط الأسموزي والخاصية الأسموزية في حياة النبات

- 1- امتصاص الماء من التربة بواسطة الشعيرات الجذرية وانتقاله الى باقي اجزاء النبات يتن بالخاصية الأسموزية.
- 2- تعمل الأسموزية على أبقاء الخلايا النباتية في حالة امتلاء والخلية الممتلئة تكسب النبات صلابة وخاصة في الأنسجة التي لم يتكون فيها أجهزة دعامية كمناطق النمو في الساق والجذر، تساعد هذه الصلابة الجذر على اختراق التربة وتساعد الساق على الاحتفاظ بقوام، كما ان الخلايا الممتلئة هي وحدها التي لها القدرة على النمو والانقسام والقيام بسائر عمليات التحول الغذائي.

- 3- تعمل الاسموزية على توزيع الماء في جسم النبات ، فاذا قل الماء في نسيج نباتي فإنه نظرا لارتفاع ضغطه الاسموزي يسحب الماء من نسيج اخر مجاور له يكون ضغطه الاسموزي منخفض.
- 4- تزيد التراكيز الاسموزية العالية مقاومة النبات لدرجات الحرارة العالية والجفاف بمعنى ان زيادة تراكيز العصير الخلوي من شأنه ان يخفض درجة الحرارة ويقلل من فقد النبات للماء.
- 5- ترتبط عملية فتح وغلق الثغور بالضغط الاسموزي للخلايا الحارسة ، فارتفاع الضغط الاسموزي يصاحبه انفتاح الثغور بينما انخفاضه يسبب انغلاقها.

### الضغط الأسموزي (O.P.) Osmotic Pressure

يُعرّف بأنه الضغط الأساسي الذي يُسلط على الخلية من الجهة الخارجية لجدار الخلية.

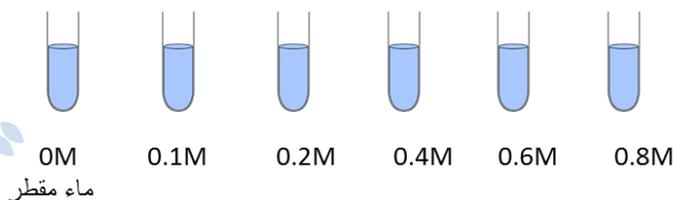
وبتعريفٍ أدق "هو الضغط اللازم لمنع مرور الماء النقي إلى داخل الخلية (محلول مائي) خلال غشاء شبه نفّاذ (Semipermeable membrane) مانعاً بذلك الزيادة في حجم المحلول. وحديثاً يُستعمل إصطلاح الجهد الاسموزي Osmotic Potential بدلاً من الضغط الأسموزي Osmotic Pressure. بالرغم من أنهما متساويان عددياً فهما يختلفان في الإشارة .

### تجربة الضغط الاسموزي باستخدام طريقة العالم Chard-Kov

المواد المطلوبة للتجربة وهي: بيكرات عدد 12 ذات حجم 100 ml ، صبغة الازرق المثيلي بتركيز 0.2% ، ثمرة بصل ، سكروز.

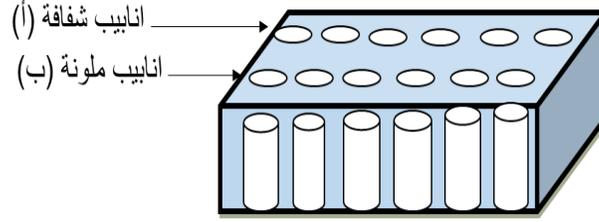
#### طريقة العمل :

- 1- تحضر محاليل السكروز بالتراكيز التاليه لكل مجموعته وهي (0, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 M) حيث يستعمل القوانين في المحاضرة الاولى لتحضير هذه التراكيز المولارية علما ان الوزن الجزيئي للسكروز = 342
- 2- استخدام group-2 من الأنابيب لكل مجموعته (كل مجموعته 6 انابيب اختبار) وتشمل :
  - أ) مجموعة انابيب (أ) 6 تسمى Test الشفافه – ضع 5 ml من المحاليل السكريه المحضره بالطريقه رقم 1 اعلاه في هذه الانابيب. ضع 1 او 2 قطع من البصل متساويه الحجم في كل انبوبة وأتركها لمدة ساعة .

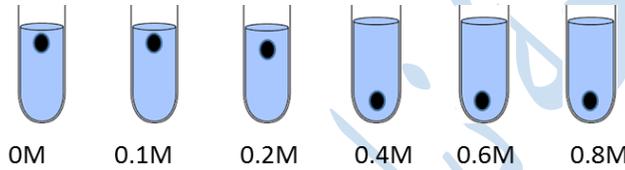


ب) مجموعة الانابيب (ب) 6 تسمى Control ملونه – ضع 5ml من المحاليل السكرية اعلاه في هذه الانابيب وتلون عادة من خلال وضع قطرة واحده من صبغه الازرق المثيل في كل انبويه وأتركها لمدة ساعه لأستخدامها لاحقا. اذاً كل انبويه فيها 5ml محلول سكري بتركيز معين + قطرة من الصبغة .

3- استخراج قطع البصل من الانابيب (أ) ثم اجري التجربه : خذ من كل انبوبة من الانابيب (ب) الملونه قطرة واحده وضعها في الانبوبة من الانابيب (أ) الشفاهه المساويه لها في التركيز بواصطة ماصه شعريه .



بحيث يكون طرف الماصة الشعريه تحت سطح المحلول بمقدار  $cm^3$  لاحظ تنزل القطره في الانبويه الشفاهه Test عموديا



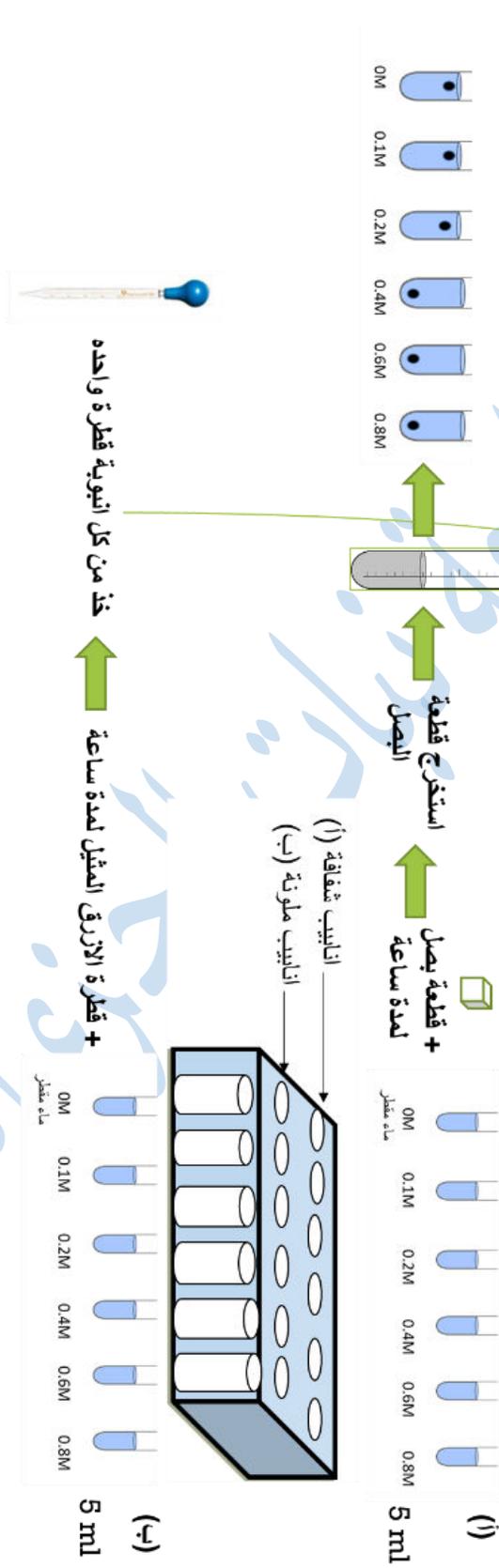
4- لاحظ سلوك القطره وكون جدول

تركيز المحلول	0M	0.1M	0.2M	0.4M	0.6M	0.8M
سلوك القطرة	اعلى	اعلى	اعلى	اسفل	اسفل	اسفل



ولتفسير النتائج

- (a) اذا نشرت القطرة داخل المحلول بهدوء دل ذلك ان كثافة المحلول لم تتغير وان جهد الماء للمحلول = جهد الماء للعصير الخلوي.
- (b) اذا كان اتجاه القطرة الى الاعلى "طافت" على سطح المحلول دل ذلك على ان كثافة المحلول اصبحت اكثر من السابق لان الماء تحرك منه الى داخل الخلايا النباتية.
- (c) اما اذا كان اتجاه القطرة الى الاسفل "غطست" في المحلول دل ذلك ان كثافة الحلول قلت لان الماء قد خرج من الخلايا الى المحلول.



## اختبار قدرة الاغشية الحية على التنافذ

### النفاذية Permeability

تتميز الخلايا النباتية الحية بأن لها القدرة على التحكم في دخول وخروج المواد المختلفة, والنفاذية الاختيارية selective Permeability للبروتوبلازم تعتبر من مميزات الأغشية البلازمية وليس من خصائص المواد التي تنفذ من خلالها لذلك فإن النفاذية صفة من صفات الأغشية البلازمية وهي تعبر عن قابلية الغشاء على مرور المواد من خلاله وتقسم الأغشية حسب نفاذيتها إلى:

### اغشية غير منفذة (غير ناضحة) impermeability membrane

ان هذا النوع من الاغشية لا ينفذ أي من جزيئات الماء (المذيب) او المواد المذابة خلاله مثل اغشية الفلين.

### اغشية شبه منفذة (نصف ناضحة) Semi permeability membrane

ان هذا النوع من الاغشية ينفذ الماء (المذيب) بسهولة بينما يتحكم في نفاذ المواد المذابة خلاله مثل غشاء السيلوفين.

### أغشية منفذة (ناضحة) Permeability membrane

ان هذا النوع من الأغشية يسمح بمرور الماء والمواد المذابة بدون تحكم مثل جدار الخلية. إن نفاذية الجزيئات والدقائق يعتمد بصورة أساسية على حجمها وعلى طاقتها الحركية والتي تعتمد على صفة هامة وهي ذوبان هذه الجزيئات والدقائق في الأغشية نفسها. ان أغشية الخلايا البلازمية تتكون من مواد دهنية ومواد بروتينية وعلى هذا الأساس فالمواد الأكثر نفاذية هي المواد التي تذوب بالدهون.

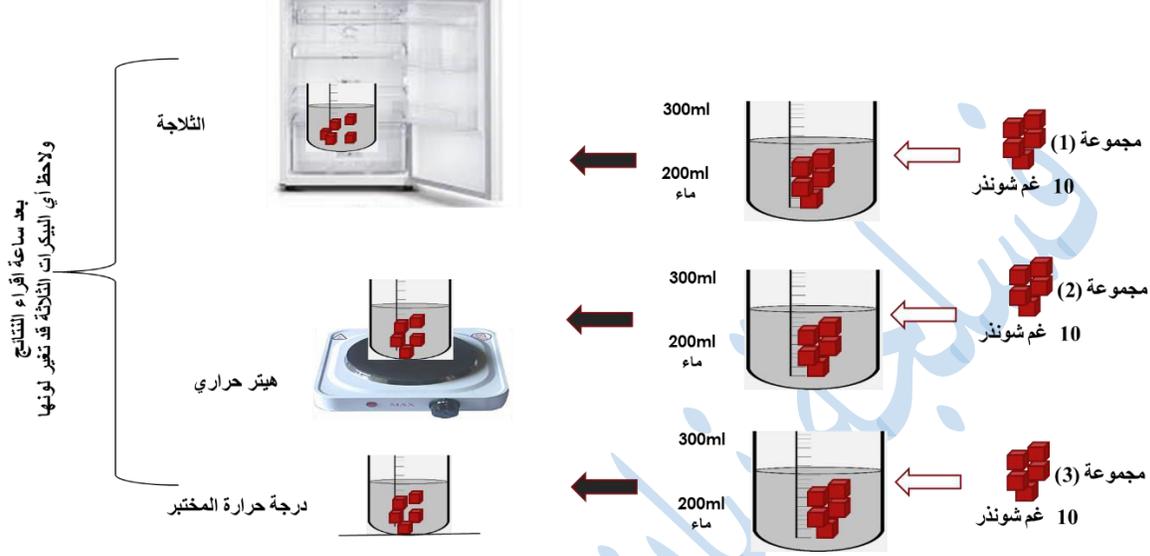
### تأثير درجة الحرارة نفاذية الأغشية البروتوبلازمية

تسبب درجة الحرارة العالية (اكثر من 60 م°) تأثير ضار على الغشاء البروتوبلازمي حيث تؤدي الى تخثر Coagulation للبروتين الداخل في تركيب الغشاء البروتوبلازمي مما يجعله يفقد خاصيته أفسلجية ويفقد وظيفته السيطرة على خروج ودخول المواد من والى الخلية, أي تصبح نفاذيته مطلقة في حين ان درجات الحرارة من 70-100 م° سوف تعمل على حدوث تمسخ للبروتين Denaturation (أي عملية فقدان التركيب الهيكلي الثنائي والثلاثي للبروتين). إما في درجة الحرارة المنخفضة (صفر مئوي) فان هذه تؤدي إلى تجمد قطرات الماء الموجودة في الأغشية, الأمر الذي يؤدي إلى زيادة حجم الماء حيث يسبب في تمزق الأغشية, وكنتيجة لذلك تنهار نفاذية هذه الأغشية وتصبح مطلقة. بينما في الدرجات الحرارية الاعتيادية لا تتأثر الأغشية البلازمية وتبقى محتفظة بوظيفتها الفسلجية.

### طريقة العمل

1- خذ ثلاث مجاميع من قطع الشوندر وأغسلها بماء الحنفية ونظفها كل مجموعة وزن 10 غم.

- 2- ضع كل مجموعة في بيكر سعة 300 مل.
- 3- أضف إلى البيكرات الثلاثة 200 مل من الماء المقطر.
- 4- ضع البيكر الأول في الثلجة، والثاني على هيتز حراري ، إما البيكر الثالث فيوضع في درجة حرارة المختبر.
- 5- بعد ساعة من الزمن أقرأ النتائج ، ولاحظ أي البيكرات الثلاثة قد تغير لونها ، ولماذا.

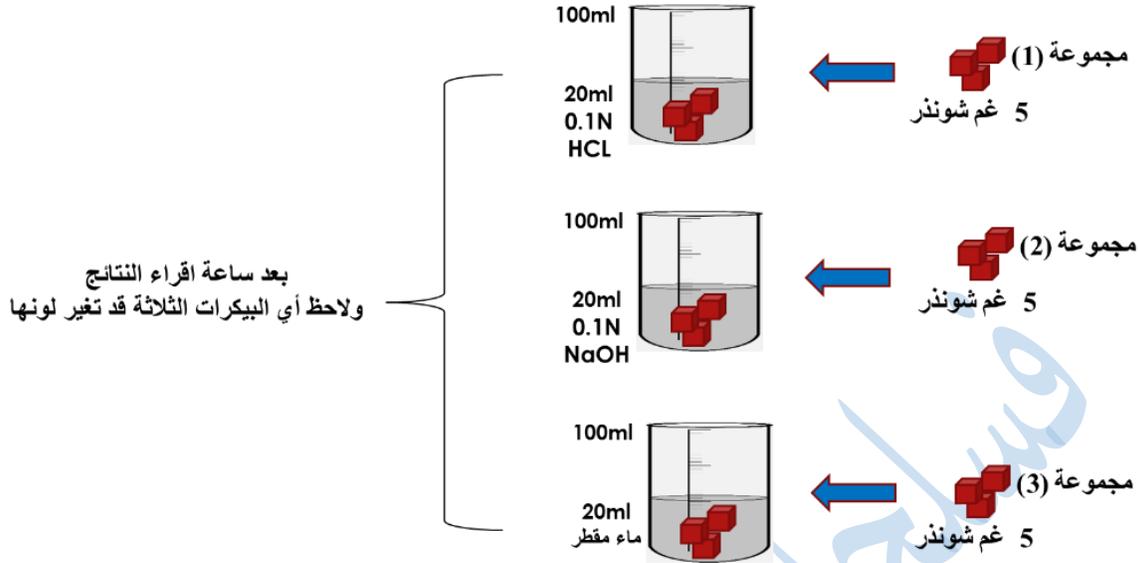


### تأثير قيمة الأس الهيدروجيني على نفاذية الأغشية البروتوبلازمية

تحمل دقائق أطوار المادة المعلقة في السايوتوبلازم والمكونة للأغشية الحية شحنات كهربائية تجعلها متنافرة وبذلك تبقى معلقة في الوسط السائل المنتشرة فيه ، لذلك تتأثر نفاذية الأغشية البروتوبلازمية تأثير واضح بتغير تركيز الأس الهيدروجيني في المحلول المبلل لجدار الخلية، لأن هذا التغير يؤثر في الحالة الطبيعية لأطوار لمكونات الغشاء مثل البروتينات، أو أنها تعمل على تعادل الشحنات الكهربائية مما يؤدي إلى جعل تلك الدقائق في حالة تكتل أو تجمع وتزداد تبعاً لذلك نفاذية الأغشية.

### طريقة العمل

- 1- خذ ثلاث مجاميع من قطع الشونذر أو أوراق نبات اليهودي ، أغسلها بماء الحنفية ونظفها كل مجموعة وزن 5 غم.
- 2- ضع كل مجموعة في بيكر سعة 100 مل.
- 3- أضف إلى البيكر الأول 20 مل من حامض HCl تركيز (0.1 N) ، وأضف إلى البيكر الثاني 20 مل من هيدروكسيد الصوديوم (0.1 N) NaOH إما البيكر الثالث فيضاف له 20 مل ماء مقطر.
- 4- ضع البيكرات على حامل أو ثبتها بدون حركة، ولاحظ بعد 5 ، 10 ، 15 ، 20 ، 30 دقيقة لون السائل في كل بيكر. ثم فسر النتائج.



## النتح Transpiration

جميع النباتات تحتاج الى كميات كبيرة من الماء خلال فترة نموها ومعظم هذا الماء يفقد بعد امتصاصه لفترة وجيزة دون ان يكون له اي دور في التفاعلات الكيميائية او المكونات البايولوجية للخلية ويطلق على فقدان الماء من النبات على صورة بخار الماء بالنتح ويحدث ذلك نتيجة فرق الجهد بين الهواء وسطح النبات ويختلف عن التبخر العادي للماء بين السطوح الرطبة في ان الكمية المتبخرة تتأثر الى حد ما في حالة النبات بالاضافة الى العوامل الفيزيائية والبيئية ويمكن قياس النتح عن طريق :

### 1. طريقة جهاز ال Potometer

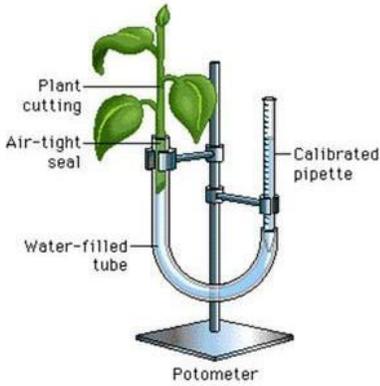
توجد طرز عدة من البوتومترات ولكن فكرة التجربة لا تتغير حيث يقدر الماء المفقود من خلال الأنبوبة الشعرية الملحقة بالبوتومتر

المواد المطلوبة : بوتومتر ، ماء ، أنابيب شعرية ، سدادات مطاطية ، نبات

### طريقة العمل :

1. ائصال الأنبوبة الشعرية بالبوتومتر من خلال سدادة مطاطية
2. يملئ البوتومتر بالماء
3. اقطع فرع مورق من النبات تحت الماء لتجنب دخول فقاعات هوائية داخل الخشب والتي تعيق وصول الماء إلى بقية أجزاء النبات
4. ثم يقاس النقص الحاصل في الماء نتيجة النتح باستخدام ال Potometer

### 2. تجربة قياس كمية النتح بطريقة Lysimeter (كمية النتح بطريقة الوزن)



- You can measure water loss by using a potometer

المواد المطلوبة: نباتات أو أجزاء نباتية (أغصان واوراق) ، أكياس نايلون ، بيكر زجاجي او سندانة  
طريقة العمل:

1. حضر نبات مزروع في سندانة
2. نقوم بوضع غطاء محكم (بكييس نايلون) على سطح التربة والسطح الخارجي للسندانة لمنع التبخر
3. نقوم بوزن السندانة مع محتوياتها وسجل الوزن الى أقرب رقم عشري ولعدة مرات على فترات زمنية متعاقبة
4. رسم المنحني البياني يبين العلاقة بين قلة الوزن بسبب النتح مع الزمن كما موضح :



نقوم بوزن السندانة مع محتوياتها على فترات زمنية

## التنفس Respiration

يعرف التنفس على أنه أكسدة المواد العضوية وتحرير ثاني اوكسيد الكربون وطاقة تستغل بواسطة الخلية النباتية في العمليات الحيوية المختلفة.

وان اهم المواد التنفسية هي الكربوهيدرات والدهون كما ان الاحماض العضوية التي تتجمع في الانسجة النباتية قد تؤكسد ثاني اوكسيد الكربون والماء. وفي ظروف خاصة قد يستغل البروتين كمادة تنفسية ويؤكسد كليا الى ثاني اوكسيد الكربون والماء والامونيا او يتأكسد بصورة جزئية الى نواتج وسطية وفيما يلي امثلة على ذلك:

1- الكربوهيدرات



2- الدهون



3- الأحماض العضوية



ان العديد من الكائنات الحية بما فيها النباتات الخضراء تستطيع اكدسة المواد العضوية الى حد معين بغياب الاوكسجين وتسمى هذه العملية بالتنفس اللاهوائي او التخمر الكحولي كما في حالة الخمائر الذي يتضمن إنتاج الكحول الايثيلي وثاني اوكسيد الكربون من سكر الكلوكوز كما في المعادلة:



في حالة تأكسد الكلوكوز كنقطة بداية للتنفس فأن جزيئة الكلوكوز تتأكسد خلال عدة مراحل وان هذه المراحل تكون مشتركة لكل من التخمر الكحولي والتنفس الهوائي وتتضمن عمليات اكدسة لا تحتاج الى وجود الأوكسجين الجوي في الخطوات الأولى وإنما يحتاج إلى الأوكسجين في الخطوات الأخيرة حيث يشترك الأوكسجين كمستقبلات

للإلكترونات المتحررة في عمليات الأكدسة هذه المراحل مجتمعة تسمى بعملية **Glycolysis** <sup>ثلاثي فسفات</sup> <sub>الأدينوزين</sub>



ان عملية التنفس تحدث في المايوتوكونديريا والطاقة المتحررة من هذه العملية تكون على شكل مركب ATP. تشمل عملية التنفس المراحل الآتية:

- 1- التحلل السكري Glycolysis
- 2- دورة كربس
- 3- السلسلة التنفسية Electron transport

### طرق قياس معدل التنفس

- ان قياس سرعة التنفس يمكن ان تتم بأحدى الطرق الآتية
- 1- النقص في الوزن
  - 2- تقدير كمية الغازات المتحررة Amount of gases
  - 3- تقدير التغيير في درجة الحرارة
- وفي جميع الطرق يجب اخذ تأثير عملية التركيب الضوئي بنظر الاعتبار

### معامل التنفس Respiratory quotient

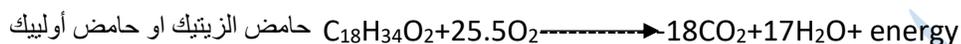
يعرف معامل التنفس بأنه النسبة بين حجم ثاني اوكسيد الكربون المنطلق الى حجم الاوكسجين الممتص في عملية التنفس. ويستخدم جهاز Ganong لقياس معامل التنفس .

تختلف قيمة معامل التنفس من نبات الى اخر ومن ظرف الى اخر كذلك تختلف هذه حسب نوع المادة المستعملة في التنفس فاذا كانت المادة المستعملة في التنفس كاربوهيدرات فان معامل التنفس في هذه الحالة يكون مساويا للوحدة لان حجم ثاني اوكسيد الكربون المنطلق يساوي حجم الاوكسجين الممتص كما في المعادلة الآتية



$$R.Q = \frac{6CO_2}{6O_2} = 1$$

اما اذا كانت مادة التنفس دهون او زيت فأن معامل التنفس يكون اقل من واحد لان حجم الاوكسجين الى الكربوهيدرات تكون اقل في حالة الدهون عنها في الكربوهيدرات حيث ان معامل التنفس للدهن يساوي 0.7 تقريبا كما يتضح من اكسدة حامض الاوليك (مادة دهنية) كما في المعادلة الاتية



$$R.Q = \frac{18CO_2}{25.5O_2} = 0.7$$

ولنفس السبب السابق يكون معامل التنفس للمواد البروتينية اقل من واحد وعلى العكس من ذلك فان الاحماض العضوية مثل المالك والاكزاليك وغيرها من المواد الغنية بالاوكسجين مقارنة مع المواد الكربوهيدراتية وعلى هذا الاساس فان معامل التنفس للاحماض العضوية يكون اكبر من واحد

وفي هذه الحالة ممكن تلخيص الاسباب الرئيسية التي تؤدي تناقص معامل التنفس عن واحد من هذه الاسباب هي

1. استخدام مادة تفاعل تحتوي على الاوكسجين بدرجة اقل من الكربوهيدرات.
2. تاكسد الكربوهيدرات تاكسدا غير كامل كما في النباتات العصرية.
3. حدوث امتصاص للاوكسجين في خطوات غير التنفس.
4. امتصاص ثاني اوكسيد الكربون في خطوات التمثيل المظلم لثاني اوكسيد الكربون Dark carbon dioxide assimilation

### فصل الصبغات الضوئية بواسطة الكروماتوغرافي

**كروماتوغرافيا (Chromatography):** هي كلمة مكونة من مقطعين: كرومو وتعني لون ، وجرافيا وتعني كتابة. وقد سميت بهذا الاسم لاسباب تاريخية حيث كانت تستعمل في البداية لفصل المواد الملون. نشأت فكرة التحليل الكروماتوغرافي على يد العالم الروسي تسويت سنة 1901م عندما حاول فصل الصبغات النباتية الملونة ، ولهذا أعطاها اسم الكروماتوغرافي (كلمة chroma باللغة اللاتينية معناها لون) وكذلك في فصل جميع المواد غير الملونة من مخاليطها سواء الصلبة أو السائلة أو الغازية. الكروماتوغرافيا أو الكروماتوغرافي أو الاستشراب أو التفريق اللوني طريقة لفصل وتنقية المواد الكيميائية المختلفة. يمكن تصنيف طرق الكروماتوغرافيا المختلفة على أساس مكونات النظام الثنائي ، فمثلا : كروماتوغرافيا الصلب-سائل تستخدم مكونا صلبا كالسيليكا أو الألومينا وأوراق الترشيح ومكونا سائلا متحركا كأى مذيب كالماء أو المذيبات العضوية.

وكروماتوغرافيا الصلب-غاز تستخدم سائلا مدمصا على صلب كمكون ثابت وأحد الغازات كمكون متحرك .

وطرق الفصل التقليدية مثل الترشيح والتقطير والترسيب غالبا ما تستخدم فيها التسخين والأحماض والقلويات، وهذه الطريقة تستغرق كثيرا من الوقت وكثيرا من الكواشف كما أن جزءا كبيرا من المادة يفقد في أثناء الفصل. لذا الكروماتوغرافيا طريقة ضرورية جدا لفصل المواد النقية عن المخاليط المعقدة. حيث ان نظرية الكروماتوغرافيا:  
نظرية الاحتفاظ

$$R_f = \frac{\text{distance moved by compound}}{\text{distance moved by solvent}}$$

نظرية الأطباق

$$K = \frac{\text{Concentration of solute in stationary phase}}{\text{Concentration of solute in mobile phase}}$$

ومن المعروف اليوم أن هناك تقنيات متعددة تتفرع من تلك التقنيات الأساسية ، إلا أنه يمكن القول بأن تلك التقنيات وتسمياتها تقوم على استخدام الوسط المتحرك كأساس للتسمية ، وذلك كما يلي :

1. كروماتوغرافيا السائل (وفيها يكون الوسط المتحرك سائلا)
2. كروماتوغرافيا الغاز (وفيها يكون الوسط المتحرك غازيا)
3. كروماتوغرافيا السوائل الحرجة (وفيها يكون الوسط المتحرك سائلا) تحت الظروف الحرجة من الضغط ودرجة الحرارة)

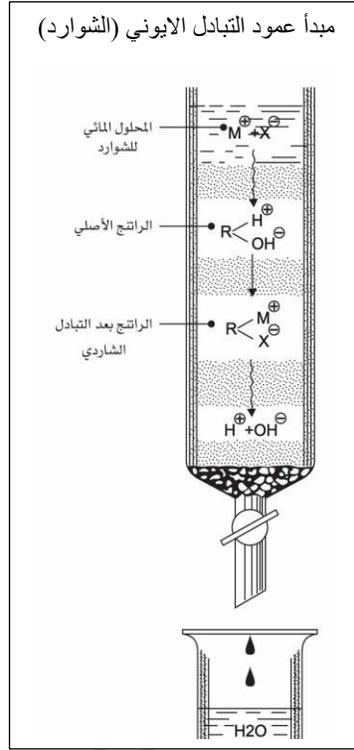
ومن الجدير بالذكر أن هناك تصنيفات أخرى ، مثل كروماتوغرافيا العمود (Column chromatography) ، إذا كانت عملية الفصل تتم داخل عمود يحتوي على الوسط الثابت ، أو الكروماتوغرافيا المسطحة التي يكون فيها الوسط الثابت مثبتا على سطح مستو من الورق أو الزجاج أو الألمنيوم أو غيره.

### الفصل باستخدام الكروماتوغرافي

تكون مكونات العينة المراد فصلها ذائبة بداية في الوسط المتحرك ، الذي يمر من خلال المسامات والأسطح الصلبة للوسط الثابت) كما هو الحال في ال liquid-solid and gas-solid chromatography ، يمكن تقسيم الكروماتوغرافي حسب نوع القوى المسؤولة عن الفصل :

### 1. كروماتوغرافيا الامتزاز (الإدمصاص) Adsorption Chromatography

التحليل الكروماتوغرافي عن طريق الإدمصاص على السطح او (الاستشراب الامتزازي) ، والطور الساكن هنا مادة صلبة. وفي هذا النوع تكون القوى المسؤولة عن فصل مكونات الخليط هي قوى الامتزاز . ويحدث بشكل أساسي في حالي ال Liquid-solid chromatography (LSC) و ال Gas-solid chromatography (GSC) حيث تتميز مكونات الخليط المختلفة بدرجات متفاوتة باستخدام صنف ثابت له خاصية الامتزاز مثل كربونات الكالسيوم أو السيليكا جل silica gel .



## 2. كروماتوغرافيا التوزيع Partition Chromatography

التحليل الكروماتوغرافي عن طريق الاختلاف في انحلالية المادة المراد فصلها ما بين الطورين الساكن والمتحرك، ويشترط في الطور الساكن أن يكون سائل مشرب أو مطعم على مادة صلبة. وتحدث في الكروماتوغرافيا التي يكون الوسط الثابت فيها سائلاً (مرتبطاً بالحبيبات الصلبة).

## 3. كروماتوغرافيا التبادل الأيوني (IEC) Ion-exchange Chromatography

التحليل الكروماتوغرافي عن طريق تبادل الأيونات بين المادة المراد فصلها وبين أيونات السطح الذي يحدث عملية التبادل وهي مادة كيميائية ويمثل الطور الساكن . ويحدث في ال IEC.

يرتبط باستشراب التمزز استعمال مبادلات الشوارد (الأيونات) ion-exchangers، وهي مركبات شاردية ضخمة (معنوية وعضوية).

ويكون بعضها هابطياً cationic مؤلفاً من نهايات كثيرة  $COO^-$  أو  $SO_3^-$  مرتبطة بشوارد  $H^+$ ، ويكون بعضها الآخر صاعدياً anionic مؤلفاً من زمرة  $N^+R_3$  مرتبطة بشوارد  $OH^-$

فإذا وضعت هذه الراتجات بتماس محلول شاردية كانت قادرة على أن تبادله بشواردها  $H^+$  أو  $OH^-$  شوارد من الإشارة نفسها (+ أو -) تأتي من المحلول.

ويؤدي هذا التبادل، كما في التمزز، إلى توازن مع المحلول، لذلك يمكن فصل أنواع شاردية عدة وفق تقنية مماثلة لتقنية استشراب الامتزاز كما في الشكل (مبدأ عمود التبادل الايوني الشوارد). وهكذا تفصل الحموض الأمينية والحموض النووية .

## كروماتوغرافيا الغاز Gas Chromatography

تعرف ايضا باسم كروماتوغرافيا السائل الغاز (GLC) ، وهو نوع من انواع الكروماتوغرافيا يكون فيه الطور المتحرك غاز ناقل وهذا الغاز عادة ما يكون غاز حامل مثل الهليوم أو النيتروجين أما الطور الثابت فهو طبقة رقيقة من سائل مدعمة على مادة صلبة خاملة . و يكون الطور الثابت داخل انبوب طويل و ضيق يعرف باسم العمود. **كروماتوغراف الغاز:** هو جهاز تحليلي كيميائي لفصل وتمييز المواد الكيميائية في العينة. يستعمل كروماتوغراف الغاز أنبوب طويل و ضيق يعرف باسم العمود، حيث تحقن العينة بداخله و من ثم تفصل المواد الكيميائية المكونة للعينة بداخله و تنتقل خلاله بسرعات متفاوتة و ذلك اعتمادا على المواد الكيميائية المختلفة و الخصائص الفيزيائية لكل مادة. وأثناء خروج المواد الكيميائية من طرف العمود ، فإنها يتم الكشف عنها و تمييزها إلكترونيا. في تحليل كروماتوغرافيا الغاز، فإن حجم معلوم من المادة المحللة الغازية او السائلة يتم حقنه في مدخل العمود باستخدام حاقنة ميكروسكوبية . وعلى الرغم من ان الغاز الحامل ينقل جزيئات المادة المحللة خلال العمود إلا أن هذه الحركة يتم اعاققتها من خلال امتزاز جزيئات المادة المحللة. ويعتمد معدل انتقال الجزيئات في العمود على مدى قوة الامتزاز و الذي بدوره يعتمد على نوع الجزيء و على نوع المواد المعبأة للعمود . حيث أن لكل مادة معدل انتقال خاص بها فإنه يمكن فصل مكونات العينة كل حسب سرعة انتقاله خلال العمود. و يستخدم مكشاف للكشف عن المكونات التي تخرج من العمود فور خروجها و يتم الكشف عنها كل على حدة حسب زمن خروجها من العمود.

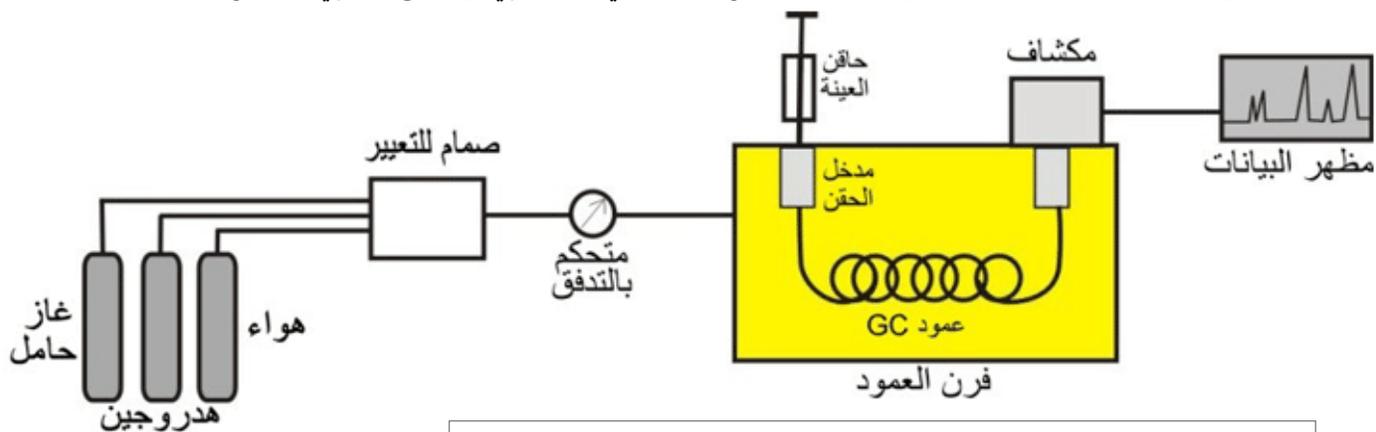
يوجد نوعان من الأعمدة تستخدم في كروماتوغرافيا الغاز:

1 – الأعمدة المعبأة و هي تحتوي على الطور الساكن أو على الطور الساكن مستندا إلى مادة صلبة داعمة و يبلغ طولها عادة من 1.5 – 10 متر و القطر الداخلي للعمود من 2-4 ملم.

2 – الأعمدة الشعرية و يبلغ قطرها الداخلي بضعة اعشار من المليمتر و يبلغ طولها عشرات الامتار. و بما ان زمن الاستبقاء أي الزمن بين حقن العينة و خروجها من العمود و اكتشافها بواسطة المكشاف يعتمد على درجة الحرارة و يتغير بتغيره توجب وضع عمود الفصل في فرن خاص يمكن ضبط درجة حرارته بشكل دقيق . و في كروماتوغرافيا الغاز يستخدم عدد من المكشافات مثل:

- أ. مكشاف الموصلية الحرارية TCD و الذي يعين التغيرات في الموصلية الحرارية للمادة المتدفقة .
- ب. مكشاف التأين اللهي FID و يستخدم للكشف عن أغلب المركبات العضوية
- ت. مكشاف الالتقاط الإلكتروني ECD للكشف عن الهاليدات و النترات و البيروكسيدات و عضويات الفلزات .
- ث. المكشاف الفوتومتري اللهي FPD و يستخدم للكشف عن الكبريت ، الفوسفور ، القصدير ، البورون ، الزرنيخ ، الجرمانيوم ، السيلينيوم و الكروم .

ج. مكشاف التأين الضوئي PID ويستخدم للكشف عن الهيدروكربونات الأليفاتية و الأروماتية و الكيتونات ، الأسترات ، الأمينات ، الحلقيات غير المتجانسة ، مركبات الكبريت العضوية و بعض عضويات الفلزات.



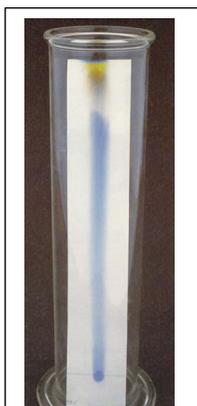
رسم تخطيطي يوضح المكونات الرئيسية لجهاز كروماتوغرافيا الغازات



صورة جهاز متقدم لكروماتوغرافيا الغازات وهو يسجل درجات تركيز acrylonitrile في الهواء عند عدة نقاط في أرجاء المعمل الكيميائي

### كروماتوغرافيا الورق Paper chromatography

طريقة لفصل المواد الكيميائية المذابة اعتمادا على خاصيتها للانتشار بسرعات مختلفة خلال قطعة من الورق تستعمل كطور ثابت. و تميز هذه الطريقة برخصها و بدقتها و بموادها البسيطة.



أنواع الورق المستخدم في الكروماتوغرافيا الورقية:  
1. الأوراق المشبعة بالمحاليل العضوية.

2. أوراق التبادل الأيوني.

3. أوراق كارهة للماء.

4. الأوراق ذات البعدين .

بعض أنواع الأطوار المتحركة المستخدمة في الكروماتوغرافيا الورق

1. كحول البيوتانول المشبع بحامض الهيدروكلوريك.

2. استيل أسيتون المشبع بالماء .

3. حامض الخليك الثلجي الحاوي على ( 5% ) من كحول الميثانول

4. اثيل - مثيل كيتون .

5. كحول الميثانول .

ويستفاد من تقنية كروماتوغرافيا الورق في تشخيص المركبات العضوية فقط , حيث يمكن معرفة قيمة عامل الإعاقة ( Rf ) للمركبات , ومن ثم مقارنته مع عامل الإعاقة للمركب القياسي ( المعروف الهوية ) فإذا تطابق كان المركب مماثل للمركب القياسي أي إن عامل الإعاقة (Rf) هو مقياس لسرعة حركة المكون نسبة إلى جهة الطور المتحرك . ويتم قياس المسافة اعتباراً من خط الابتداء, أي من مركز البقعة ( النموذج الذي على الورقة ) أي جبهة الطور المتحرك.

### تجربة الكروماتوغرافي الورقي

المواد والادوات:

ورق كروماتوغرافي (ورق ترشيح مناسب) – مذيب (الايثانول أو كحول ايزوبروبيل Isopropyl alcohol) - صبغة ( بقعة بقلم فلوماستر ملون ) أو نقطة حبر أسود و أحمر – قلم رصاص مع مسطرة – سلك لربط الورقة - ماصة.

خطوات العمل:

جهز ورقة الكروماتوغرافي بعرض مناسب (2 سم تقريبا) وبطول ثلثي الأنبوبة ارسم خط البداية بالقلم الرصاص على منتصف الورقة على شكل حرف T كما في الشكل، وضع عليه بقعة ملونة كثيفة واتركها قليلاً لتجف ثم ضع قطرة ثانية في نفس المكان لزيادة تركيز القطرة على الورقة . صب المذيب في الأنبوبة بعمق قليل بمسافة حوالي 1 سم اسفل قطرة الصبغ كما في الشكل. ثبت الورقة في سلك ( يمكن تثبيت الورقة في شق أسفل السدادة بدلاً من السلك) وضعها في الأنبوبة بحيث يكون سطح المذيب أسفل خط البداية.

انتظر حتى يصعد المذيب الى ما قبل نهاية الورقة بحوالي (1) سم.

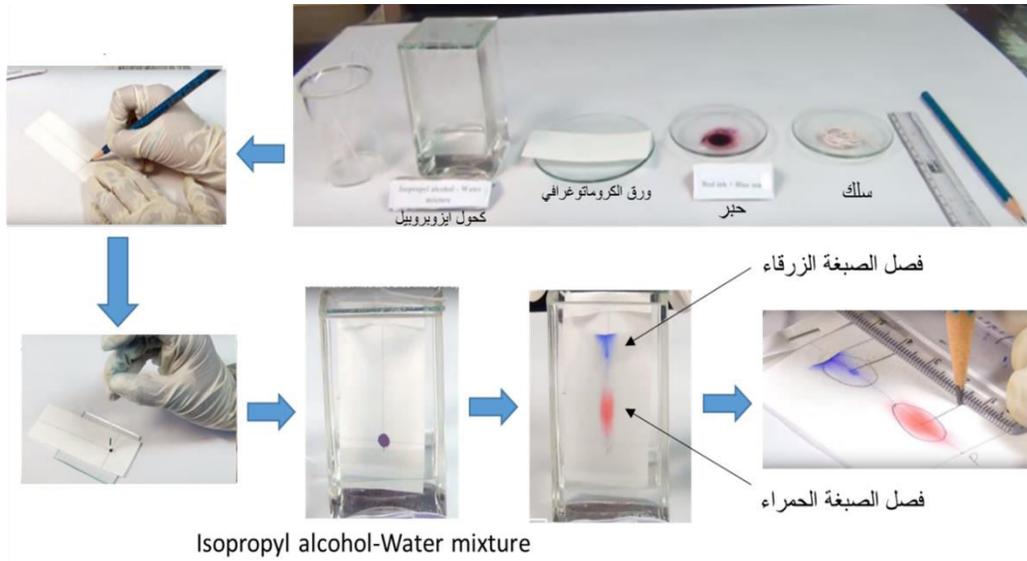
اخرج الورقة من داخل الأنبوبة وجففها.

ثم قيس المسافة بين نقطة البداية (الخط الاصلي) ومنتصف صعود اللون الاحمر ومنتصف صعود اللون الازرق واعلى ارتفاع ، يمكن معرفة قيمة عامل الإعاقة ( Rf ) من خلال المعادلة التالية :

$$Rf = \frac{\text{Distance travelled by the component from the original line}}{\text{Distance travelled by the solvent from the original line}}$$

ماذا تلاحظ ؟ ..... فصل الصبغات ( الالوان ) .....

الاستنتاج: البقعة الملونة مادة مخلوطة ، يستخدم التحليل الكروماتوغرافي في فصل مكونات مخلوط



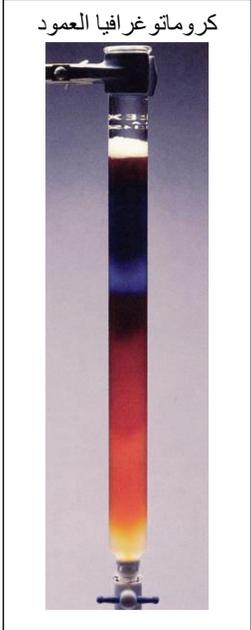
رسم يوضح تجربة الكروماتوغرافي الورقي



ملاحظة: أثناء حركة المذيب خلال الورقة و انتقاله من الاسفل الى الاعلى فإنه يمر على العينة ، فيحمل مكونات العينة أثناء مسيره في الورقة .سرعة تحرك مكونات العينة يعتمد على مدى ذائبيتها في الطورين المتحرك و الثابت

**كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة Thin – Layer Chromatography**

نوع من أنواع الكروماتوغرافيا يرمز لها بالرمز TLC و هي تقنية تستخدم لعمليات لتحليل الكيميائي ، و في هذه التقنية يأخذ الطور الثابت شكل طبقة رقيقة تغطي شريحة أو لوح زجاجي ، بينما الطور المتحرك يكون على شكل سائل كالإيثانول مثلا . ففي هذه التقنية يتم وضع قطرة أو نقطة من العينة على اللوح الزجاج بمسافة تبعد عن الحافة السفلية للوح الزجاجي تقريبا 3 سم و من ثم يتم تجفيف اللوح و بعد ذلك يوضع اللوح في وعاء يحتوي على مذيب ، و أثناء انتقال المذيب من اسفل لأعلى خلال اللوح الزجاجي عن طريق الخاصية الشعرية ، فإنه يحمل معه العينة و هذه العينة أثناء انتقالها من اسفل لأعلى تتحلل حسب مكوناتها و تكون على شكل بقع ملونة على طول اللوح الزجاجي ، و بعد مرور فترة من الزمن يتم تجفيف اللوح و من ثم يتم تحديد و دراسة هذه البقع ، و من خلال حساب المسافة التي قطعتها البقع مع حساب الزمن يمكن تحديد و معرفة المواد المركبة للعينة .



**كروماتوغرافيا العمود Column Chromatography**

طريق من طرق التحليل الكروماتوغرافي فيه توضع محلول العينة في عمود مملوء بالسليكا جل أو هلام السليكا . وأثناء سير المحلول خلال العمود فإن مكونات العينة تتفاوت في

سرعتها في الوصول إلى أسفل العمود و بالتالي يصبح العمود معلما بحلقات أفقية ملونة كل منها يمثل احد مكونات محلول العينة.

### قياس طيف الامتصاص الضوئي الفعلي لصبغات الكلوروفيل

إن صبغة الكلوروفيل تعتبر الصبغة الرئيسية المسؤولة عن اللون الأخضر للأوراق والسوق النباتية، وكذلك تجمع الطاقة الضوئية المستخدمة في عملية البناء الضوئي Photosynthesis ، ولقد وجدت انواع عديدة من الكلوروفيل اهمها في النباتات الراقية كلوروفيلات a و b ونسبة الاول الى الثاني غالبا 1:3 ولونهما اخضر كما أن الكلوروفيل لا يوجد منفرداً بل دائماً مختلطاً بصبغات أخرى اهمها الكاروتينات والزانثوفيلات ولا يذوب في الماء بل بالمذيبات العضوية مثل الأسيتون والكلوروفورم والأثير...الخ.

### صبغات البناء الضوئي

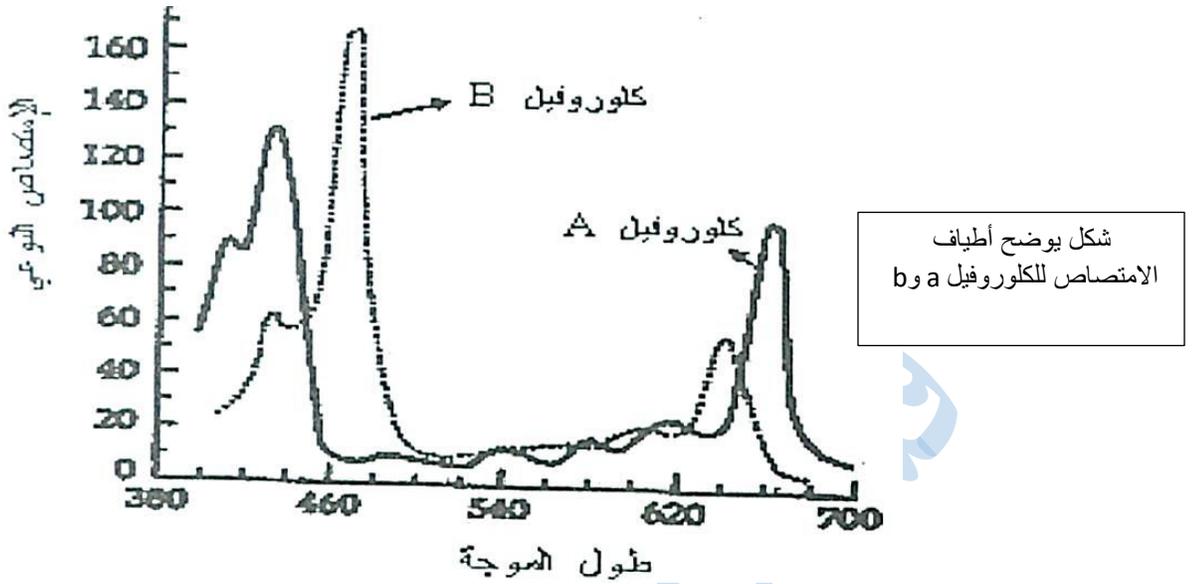
ان الصبغات التي تقوم بامتصاص الطاقة الضوئية وتحويلها الى كيميائية هي الصبغات الخضراء الموجودة في البلاستيدات الخضراء وهي :

**الكلوروفيلات** : كمياتها في النبات تعادل عشر اضعاف كمية الكاروتينات وانوعها هي :-

- 1) كلوروفيل a يوجد في جميع النباتات التي تقوم بالبناء الضوئي و اعلى امتصاص لها يقع عند الطولين الموجيين 430 – 660 نانوميتر .
- 2) كلوروفيل b يوجد في جميع النباتات الراقية والطحالب الخضراء و اعلى امتصاص له يقع عند الطولين الموجيين 430 -660 نانوميتر .
- 3) كلوروفيل c يوجد في الاشنات السمراء .
- 4) كلوروفيل d يوجد في الاشنات الحمراء .
- 5) كلوروفيل e يوجد في بعض النباتات .

### الاختلافات بين كلوروفيل a و كلوروفيل b هي :

1. كمية كلوروفيل a تساوي 3 اضعاف كمية كلوروفيل b
2. لون كلوروفيل a اخضر مزرق بينما لون كلوروفيل b اخضر فاتح
3. كلوروفيل a يوجد في جميع النباتات التي تقوم بالبناء الضوئي اما وروفيل b يوجد في جميع النباتات الراقية والطحالب الخضراء
4. كلوروفيل a ويمتلك أعلى ذروة امتصاص له في المنطقة الزرقاء البنفسجية في طول موجة 430 نانومتر أقصر نسبياً مما هي في حالة الكلوروفيل b أي بطول موجة 450 نانوميتر، بينما في المنطقة الحمراء يمتص الكلوروفيل a موجة أطول نسبياً 660 نانوميتر مما هي في حالة الكلوروفيل b أي في حدود 640 نانوميتر كما في الشكل .



الكاروتينات : وتشمل  $\alpha$ -carotene و  $\beta$ -carotene واللايكوبين Lycopene

الزانتوفيلات : تتواجد في البلاستيدات الخضراء ووظيفتها هي :

1. منع الأكسدة الضوئية للكلوروفيلات بوجود الضوء.
2. امتصاص الضوء اللازم لعملية التمثيل الضوئي ونقله إلى مناطق الاستغلال .
3. تساهم في عملية الانتحاء الضوئي .

التقدير الكمي لصبغات الكلوروفيل الكلي وكلوروفيل (a و b)

يقدر محتوى الأوراق الخضراء من صبغات الكلوروفيل حسب طريقة (Goodwin)

المواد المطلوبة للتجربة:

1. أسيتون بتركيز 85% ، هاون خزفي ، ميزان حساس ، أوراق نبات ، ماء مقطر ، ورق ترشيح ، ورق زجاجي ، جهاز المطياف الضوئي UV-visible Spectrophotometer

طريقة العمل :

2. تغسل الأوراق الخضراء بالماء المقطر جيداً وتجفف هوائياً
3. ثم أخذ (1غم) وزن طري للأوراق
4. يقطع النسيج الورقي لتسهيل عملية الاستخلاص ويوضع في هاون خزفي
5. ثم أضيف له (10 مل) ، أسيتون تركيز 85%
6. ثم سحق النسيج الورقي مع الأسيتون بهاون خزفي حتى ظهور اللون الأبيض للنسيج
7. رشح المستخلص وذلك باستعمال ورق ترشيح

8. قيس الامتصاص الضوئي للصبغات وعلى طولين موجيين هما 645 و 663 نانوميتر وذلك باستعمال جهاز المطياف الضوئي UV-visible Spectrophotometer
9. ثم حساب كمية صبغة الكوروفيل الكلية و a و b ، وذلك بتطبيق المعادلة الآتية :

$$\text{Chlorophyll a (mg/g)} = [12.7 (A_{663}) - 2.69 (A_{645})] \times V / 1000 \times W$$

$$\text{Chlorophyll b (mg/g)} = [22.9 (A_{645}) - 4.68 (A_{663})] \times V / 1000 \times W$$

$$\text{Total chlorophyll (mg/g)} = [20.2 (A_{645}) + 8.02 (A_{663})] \times V / 1000 \times W$$

علما أن:-

A = قراءة الامتصاص الضوئي للجهاز.

A 663 = قراءة الامتصاص الضوئي بطول موجي 663 نانوميتر.

A 645 = قراءة الامتصاص الضوئي بطول موجي 645 نانوميتر.

V = الحجم النهائي المستخلص (10 مل).

W = وزن النسيج الورقي (1 غم) .

### التركيب الضوئي (تفاعل هل)

الوظيفة الأساسية للطاقة الضوئية في عملية التركيب الضوئي هي تكوين ATP من خلال سلسلة معقدة من التفاعلات الضوئية المسفرة Photophosphorylation وتكوين القوة المختزلة المتمثلة ب  $NADPH + H^+$  . فقد تبين ان اصل الاوكسجين الخارج من عملية التركيب الضوئي هو الماء وليس من  $CO_2$  ويمكن ذكر تجارب تبين صحة الفكرة:

### تفاعل هل Hill Reaction

في سنة 1937 قام العالم الانكليزي R. Hill بنشر نتائج ابحاثه حول دور البلاستيدات الخضراء المستخلصة من نبات الستيلاريا *Stellaria* تنتج كميات حقيقية من غاز الاوكسجين عند تعرضها الى الاشعة الضوئية اذا ما اضيفت ليها بعض المواد الكيميائية التي تستطيع اكتساب الهيدروجين Hydrogen accepting compounds كاملاح الحديدك Ferric Salts كمعامل مساعد (مستلما للهيدروجين).

كما يمكن اجراء تفاعل Hill باستعمال الصبغة (2,6-DCPIP) (2,6-Dichlorophenolindophenol) كعامل مؤكسد.

## تجربة عزل الكلوروبلاست (البلاستيدات الخضراء)

### المواد اللازمة للتجربة

NaCl ، طبقات قماش ، هاون خزفي ، جهاز الطرد المركزي (Centrifuge) ، اوراق نبات السبانغ ، انابيب اختبار ، KCl ، فوسفات بفر (Phosphate Buffer) ، ثلج

### طريقة العمل:

1. توزن 20غم من الاوراق الخضراء للسبانغ ثم توضع في هاون خزفي
2. تسحق الاوراق مع اضافة 10 ملل من محلول NaCl ذو تركيز 0.35M بواسطة الهاون الخزفي ولمدة لنصف ساعة
3. يرشح المستخلص بواسطة طبقات من القماش
4. ينقل الرشح الى انبوب اختبار ثم جهاز الطرد المركزي بسرعة 200xg لمدة دقيقتين.
5. نترك الراسب وناخذ السائل ونضعه في انبوب جديد وينقل الى جهاز الطرد المركزي بسرعة 1000xg لمدة 7 دقيقة.
6. يترك السائل وناخذ الراسب لاحتوائه على البلاستيدات الخضراء ويوضع في انبوب جديد
7. يضاف الى الانبوب 35 ملل من محلول NaCl ذو تركيز 0.35M
8. ينقل الى جهاز الطرد المركزي بسرعة 1000xg
9. ياخذ الراسب (حيث يحتوي على الكلوروبلاست) ويمزج مع 100 ملل فوسفات بفر حاوي على KCl بتركيز 0.08 M ثم ينظم الرقم الهيدروجيني ال pH الى 6.5
10. يحفظ المحلول بالثلج لغرض استخدامه في تجربة تفاعل هل.

## تجربة تفاعل هل Hill Reaction

### المواد اللازمة للتجربة

الكلوروبلاست ، انابيب اختبار ، فوسفات بفر (Phosphate Buffer) ، فيتامين C ، صبغة DCPIP 2,6 ، ورق المنيوم ، مرشح مائي (اناء زجاجي) ، جهاز المطياف الضوئي UV-visible Spectrophotometer

### طريقة العمل:

- 1- حضر- (5) انابيب اختبار (4) انابيب منها اضعف اليها 9 ملل من الفوسفات بفر ذات تركيز 0.05M ثم يضبط الرقم الهيدروجيني pH الى 6.5
- 2- يضاف الى كل انبوب 1 ملل من محلول الكلوروبلاست
- 3- الانبوب الخامس يضاف نفس المحتويات اعلاه مع مراعات غلي معلق الكلوروبلاست

- 4- ثم اضافة الى جميع الانابيب الاختبارية اثار قليلة من فيتامين C لماذا لانه يقوم باختزال صبغه DCPIP 2,6 حيث ان هذه الصبغة لا تختزل بالظلام.
- 5- امزج جيداً محتويات الانابيب.
- 6- يغطي احد الانابيب الاربعة بغطاء من الالمنيوم لمنع وصول الضوء اليها .
- 7- ثم توضع الاربعة انابيب (باستثناء المغطاء بالالمنيوم) امام مصباح بقوة 100 واط وتخلص من الحرارة بواسطة فصل الانابيب عن المصباح بمرشح مائي (اناء زجاجي ابعاد 30×30×30سم).
- 8- في بداية العمل اضعف 0.3 ملل من محلول الصبغة اعلاه بتركز 1% الى جميع الانابيب باستثناء المغطاء (تعتبر Blank).
10. امزج ثم اقرأ الامتصاصية باستعمال جهاز المطياف الضوئي UV-visible Spectrophotometer لكل مخلوط في الطول الموجي 600nm بعد وضع المخلوط في (cuvete).
- 9- ارجع المحاليل الى الانابيب الاختبارية الاصلية وضعها الان معرضه للضوء ثم اقرأ الامتصاصية بطول موجة 600nm
- 10- بعد تعرض احدى الانابيب لمدة عشرة دقائق والآخرى لمدة 30 دقيقة والآخرى لمدة 50 دقيقة الى الضوء مع رج محتويات كل انبوبة قبل قراءة الامتصاصية لها.

### قياس المساحة الورقية

تقاس المساحة الورقية بعدة طرق منها الطرق التقليدية لقياس المساحة الورقية او استخدام جهاز قياس المساحة الورقية نذكر بعض طرق قياس المساحة الورقية منها :

اولاً: طريقة قياس المساحة الورقية على اساس الوزن الجاف

مواد التجربة :

1. اوراق نبات 2. ثاقب فلين 3. فرن كهربائي

طريقة العمل :

1. اخذ اوراق النبات بصور عشوائية من النبات
2. قطع مساحة ورقية معلومة بواسطة ثاقب فلين معلوم المساحة ( 1 سم<sup>2</sup>) لكل قطعة او قطع بواسطة مقص على شكل مربعات معلومة المساحة
3. تجفف في فرن كهربائي في درجة حرارة 65 م° لحين ثبوت الوزن الجاف
4. تطبق المعادلة التالية

المساحة الورقية (سم<sup>2</sup>) = (الوزن الجاف للأوراق × المساحة الورقية المعلومة) \ الوزن الجاف للمساحة الورقية المعلومة

المساحة الورقية . نبات<sup>1-</sup> = معدل مساحة الورقة الواحدة × عدد الأوراق . نبات<sup>1-</sup>

**ملاحظة :** يمكن حساب المساحة الورقية على اساس الوزن الطري بنفس الطريقة وبدون حاجة الى التجفيف ولكن طريقة حساب المساحة الورقية على اساس الوزن الجاف اكثر دقة من طريقة حساب المساحة الورقية على اساس الوزن الطري.

**ثانيا: قياس المساحة الورقية بالطريقة الاحصائية باستخدام معادلات الانحدار مواد التجربة :**

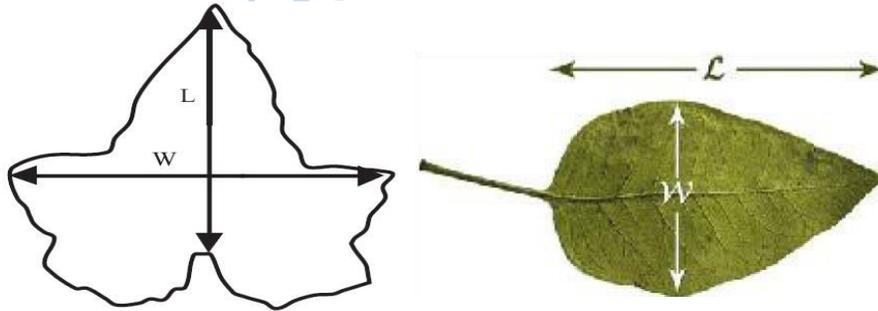
1. اوراق نبات 2. مسطرة

**طريقة العمل :**

1. يقاس طول  $L$  وعرض  $W$  الورقة باستخدام المسطرة حسب الشكل التالي
2. استخدام التحليل الانحداري لبيان العلاقة بين المتغيرين هذين المستقلين والمتغير التابع والذي هو قراءات المساحة الورقية.

**ملاحظة :** وهناك دليل لقياس المساحة الورقية Leaf area index نذكر قياس المساحة الورقية لبعض النباتات:

- المساحة الورقية لنبات الارز = طول الورقة  $\times$  اقصى عرض الورقة  $\times 0.802$
- المساحة الورقية لنبات فول الصويا = طول الورقة  $\times$  اقصى عرض الورقة  $\times 0.624$
- المساحة الورقية لنبات القطن = طول الورقة  $\times$  اقصى عرض الورقة  $\times 0.77$
- المساحة الورقية لنبات الذرة الصفراء = طول الورقة  $\times$  اقصى عرض الورقة  $\times 0.75$



شكل يوضح قياس طول وعرض الورقة

**ثالثا: قياس المساحة الورقية بطريقة الاستنساخ (سم<sup>2</sup>)**

**مواد التجربة :**

1. اوراق نبات 2. جهاز استنساخ 3. ميزان حساس 4. مسطرة

**طريقة العمل :**

1. تصور الاوراق بواسطة جهاز استنساخ بالشكل والمساحة الحقيقية
2. توزن ورقة الاستنساخ كاملة ذات ابعاد معلومة (طول وعرض) بواسطة ميزان حساس

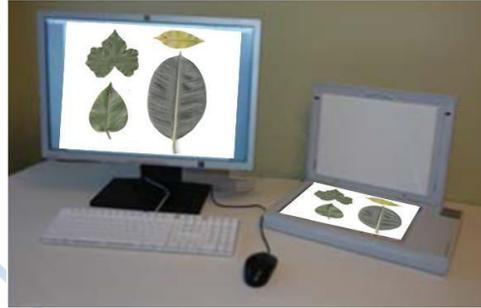
3. تحسب مساحة الورقة بواسطة النسبة والتنسب حسب القانون التالي:  
المساحة الورقية لورقة النبات = (وزن شكل الورقة المستنسخة x مساحة ورقة الاستنساخ) \ وزن ورقة الاستنساخ

رابعاً: قياس المساحة الورقية بطريقة الحاسوب  
مواد التجربة :

1. اوراق نبات 2 جهاز الماسح الضوئي (Scanner) 3. حاسوب (Computer) 4. برنامج (Photo Shop)

طريقة العمل :

1. تاخذ عينات عشوائية من الاوراق المراد معرفة المساحة الورقية لها
2. توضع على جهاز الماسح الضوئي (Scanner) حسب الشكل التالي
3. تحول الى صورة مقروءة من قبل الحاسوب (Computer) عن طريق برنامج (Photo Shop)
4. يتم الفصل والتمييز بين الخلفية البيضاء لصورة الاوراق والتعرف على ورقة النبات
5. يتم حساب المساحة الورقية من خلال تقسيم كل انج مربع من صورة الورقة الملونة الى 100,000 نقطة
6. وتقسم مجموعة عدد النقاط المحددة من قبل البرنامج للمساحة الورقية على 100,000 يتم معرفة المساحة الورقية بالانج
7. ثم يحول القياس من انج الى السنتمتر مربع



شكل يوضح قياس المساحة الورقية بواسطة جهاز الماسح الضوئي و الحاسوب

خامساً: طريقة قياس المساحة الورقية باستخدام جهاز قياس المساحة الورقي ال Portable Leaf Area Meter  
هو جهاز لقياس المساحة الورقية ب السنتمتر المربع وتوجد انواع عديدة من هذا الجهاز حسب الشركة المصنعة  
كما في الشكل التالي



بعض اشكال جهاز قياس المساحة الورقية Portable Leaf Area Meter

### التقدير الكمي للبروتينات النباتية

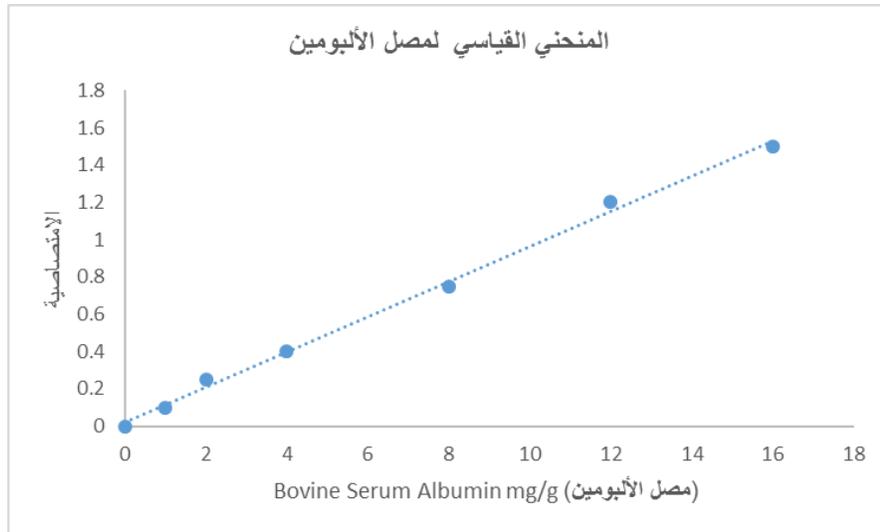
لتقدير محتوى الأوراق من البروتينات الذائبة الكلية ( ملغم . غم<sup>-1</sup> وزن جاف) هناك ثلاث مراحل هي

المرحلة الاولى : تحضير المحاليل (A,B,C) كما في الجدول التالي :

المحاليل	مكونات المحلول	الكمية
محلول A	1. كاربونات الصوديوم $\text{Na}_2\text{CO}_3$	2 g
	2. هيدروكسيد الصوديوم NaOH	0.4 g
تذابان في 100 ml ماء مقطر		
محلول B	1. كبريتات النحاس $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.5g تذاب في 100 ml ماء مقطر
	2. Sodium tartrate $\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6\text{Na}_2$	0.1 g تذاب في 100 ml ماء مقطر
يمزج حجمان متساويان منهما للحصول على محلول B		
محلول C	محلول A	50 ml
	محلول B	1 ml

### المرحلة الثانية : تحضير المنحنى القياسي للبروتين

1. تحضير تراكيز مختلفة من مصبل ألبومين (BSA) Bovine Serum Albumin (0, 1, 2, 4, 8, 12, 16 mg/ml)
2. ناخذ خذ 1ml من التراكيز السابقة كل على حدة وتوضع في انابيب
3. يضاف إليها 5ml من محلول (C) ومزجا جيداً
4. يترك المزيج في مكان مظلم لمدة 10 دقائق
5. ثم أضيف 0.5 ml من كاشف فولن Folin وتترك بدرجة حرارة الغرفة لمدة 30 دقيقة
6. ثم تقاس الامتصاصية باستخدام جهاز المطياف الضوئي UV-visible Spectrophotometer على الطول موجي 600 نانوميتر
7. ثم يرسم المنحنى القياسي كما في الشكل التالي:



### المرحلة الثالثة : استخلاص البروتين الكلي وتقديره

1. ناخذ اوراق نبات ثم تجفف بواسطة فرن كهربائي
2. ياخذ 1g من الاوراق المجففة المطحونة ثم يضيف لها 15 ml Trichloro Acetic Acid (TCA) بتركيز 5%
3. ثم تسحقت جيداً في جفنه خزفية ثم نبذت مركزياً بواسطة جهاز الطرد المركزي عند سرعة 1000 دورة/دقيقة لمدة 15 دقيقة
4. وعزل الراشح بعدها غسل الراسب 3 مرات في محلول TCA 5% ونبذ في كل مرة
5. ثم تضيف للراسب هيدروكسيد الصوديوم 5ml NaOH (1 N) وتمزج
6. وترك ليستقر لمدة 24 ساعة وفي درجة حرارة الغرفة
7. بعدها نبذ مركزياً لمدة 15 دقيقة بواسطة جهاز الطرد المركزي
8. ياخذ الراشح منه ويكمل إلى 15 ml باستعمال محلول هيدروكسيد الصوديوم (1N).
9. ياخذ 1 ml منه وأضيف له 5 ml من محلول (C) ويمزج جيداً ويرك المزيج في مكان مظلم لمدة 10 دقائق
10. بعدها أضيف 0.5ml من كاشف فولن Folin وترك لمدة 30 دقيقة في درجة حرارة الغرفة
11. ثم تقاس الكثافة الضوئية باستعمال جهاز المطياف الضوئي UV-visible Spectrophotometer على طول 600 نانوميتر
12. ثم تطبق القراءة على المنحني القياسي لمصل الالبومين لغرض تقدير البروتين الكلي

**ملاحظة :** ويمكن ايضا تقدير البروتين باستخدام معامل البروتين من خلال قياس النتروجين ومن ثم تطبيق المعادلة التالية:

## % كمية البروتين = كمية النروجين (%) × معامل البروتين (6.25)

أن حساب البروتين باستخدام النيتروجين مضروبا في 6.25 فية خطأ قد يكون كبير في بعض الأحيان فالمواد الغذائية تحتوي علي مواد ازوتية غير بروتينية مثل الامونيا والأحماض الامنية قد تحتوي على 80 % نيتروجين وبهذا قد يخلت تقدير البروتين بطريقة كدال لمثل هذه المواد .

## تجارب الهرمونات النباتية

### تجربة اختبار الانحناء لغمد الشوفان Avena coleoptile curvature test

يمسى هذا الاختبار ايضا اسم اختبار ونت (F. W. Went) للشوفان ويعتبر من اشهر الطرق لتقدير فعالية الاوكسينات

مواد التجربة : 1. حبوب الشوفان 2. شفرة حادة 3. مكعب الاكار 4. الاوكسين

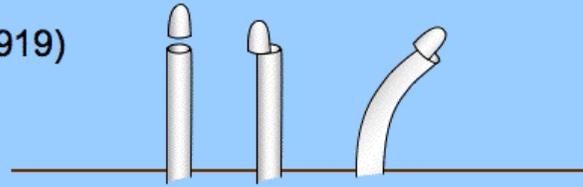
### طريقة العمل :

1. نقع حبوب الشوفان في الماء لمدة 2-3 ساعة
2. ثم تزرع البذور في مكان مظلم عند درجة حرارة 25 م°
3. عند وصول عندما يصل طول غمد الشوفان بين 15-30 ملم يقطع بواسطة شفرة حادة 1 ملم من القمة النامية لغرض ازالة المصدر الطبيعي للاوكسين
4. بعد مرور 3 ساعات يقطع 2-4 ملم من القمة ثانية للتخلص من جميع الانسجة التي يمكن ان ينتشر بها الاوكسين
5. توضع مكعب الاكار بحجم 5-10 ملمتر مكعب والحماية على الاوكسين على جانب واحد من القمة المقطوعة لغمد الشوفان
6. حيث ينتقل الاوكسين بصورة قطبية نحو الاسفل في جانب الغمد الذي وضع عليه قطعة الاكار
7. بعد 1-1.5 ساعة تقاس زاوية انحناء غمد الشوفان
8. يلاحظ بان انحناء الناتج عن وضع الاكار لامركزيا على الاغمد التي قطعت قممها يتناسب طرديا مع درجة تركيز الاوكسين

**ملاحظة :** يجب اجراء جميع الخطوات السابقة ببعيدا عن الضوء وتحت اشعة الضوء الاحمر فقط ضعيف الكثافة الذي لا تستجيب له غمد الشوفان ، بينما الضوء الابيض يعمل على خفض الحساسية ويسبب بعض الانحناءات

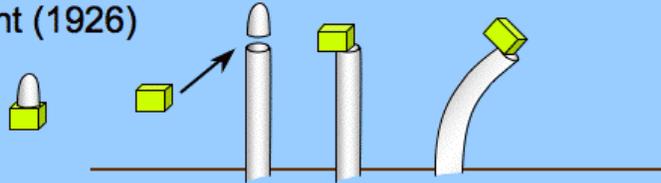
## Discovery of Auxin: Tropic Response of Grass Seedlings

Paál (1919)

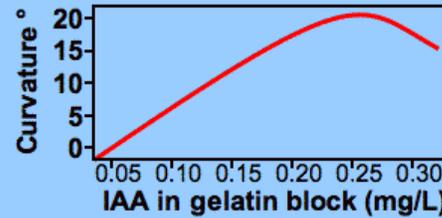


tip replaced off-center = curvature in dark

Went (1926)



tip incubated on gelatin block  
tip replaced by block, but off-center  
curvature in dark



تجربة تنشيط النمو لنبات القمح القزمي باستخدام الجبرلين

مواد التجربة : 1. حبوب القمح القزمي 2. اطباق بتري 3. رمل 4. جبرلين 5. ماء مقطر

طريقة العمل :

1. تنقع حبوب القمح القزمي في الماء لمدة 6-8 ساعات.
2. تزرع الحبوب في اطباق بتري (عدد اثنين) حاوية على رمل وتوزع توزيع متساوي وعلى عمق ثابت داخل حبيبات الرمل الرطب.
3. تعرض الاطباق للضوء لمدة 16 ساعة والظلام لفترة 8 ساعات يوميا.
4. بعد خروج الاوراق من غمد البادرات حيث ان الطبقة الاولى يرش بالماء المقطر وهو معاملة المقارنة.
5. اما الطبقة الثانية ترش الاوراق بالجبرلين بتركيز ما بين 0.001-10 ppm والحاوي على 0.1% من مركب Tween-20 وهو مادة ناشرة فائدته لغرض زيادة التساق الجبرين بسطح الاوراق.
6. يلاحظ استجابة الطبقة الثانية المعامل بالجبرين زيادة في طول البادرات قد تصل الى 25% مقارنة بالطبقة الاولى لمعاملة المقارنة (الرش بالماء المقطر).

## تجربة تقدير فعالية الساييتوكاينين على الكلوروفيل

مواد التجربة : 1. نبات الفجل 2. ثاقبة الفلن 3. اطباق بتري 4. الساييتوكاينين 5. الحاضنة الكهربائية 6. مواد الازمة لقياس الكلوروفيل (كما وصفت في المحاضرة السابقة لقياس الكلوروفيل)

### طريقة العمل :

1. اوراق نبات الفجل لبادرات تامة النضج الفسيولوجي عمرها ثلاث اسابيع
2. تقطع الاوراق على شكل دوائر معروفة المساحة بوسطة ثاقبة الفلن
3. تحضر مجموعتين متساويتين من الاجزاء الورقية المقطوعة (المعروفة القطر والمساحة)
4. تغمر الاجزاء الورقية المقطوعة للمجموعة الاولى في طبق بتري يحتوي على ماء مقطر
5. اما الاجزاء الورقية للمجموعة فتغمر في في طبق بتري يحتوي 5ml من محلول مستخلص من مادة الساييتوكاينين
6. تنقل الى الحاضنة الكهربائية عند درجة 30 م° ولمدة 4 يوم
7. ترفع الدوائر الورقية من الاطباق وتقدر نسبة الكلوروفيل كما وصفت في المحاضرات السابقة
8. فيلاحظ تركيز الكلوروفيل في المجموعة الثانية اعلى من المجموعة الاولى دلالة على ان للساييتوكاينين يعمل على منع هدم الكلوروفيل

## تجربة دور الايثيلين في الثمار الناضجة

مواد التجربة : 1. ثمار غير تامة النضج (ثمار الطماطة او الليمون الاخضر اللون) 2. غاز الايثيلين

### طريقة العمل :

1. تحضر ثمار غير تامة النضج وما زالت في طور الصلابة كما في ثمار الطماطة والليمون الاخضر اللون
  2. تسلط عليها غاز الايثيلين بتركيز 0.05 ppm ولمدة 48 ساعة على درجة حرارة 25 م°
  3. نلاحظ اتمام النضج لهذه الثمار
- ملاحظة: عند زيادة معدل التنفس بشكل مفاجيء Sharp Rise نتيجة للاثلين حيث ينخفض قرب نهاية فترة تفتح تلك الثمار وتسمى هذه الظاهرة بالتنفس الغضروفي Respiration Climacteric حيث تحفز هذه العملية الثمار على التحول من حالة غير ناضجة إلى حالة النضج وقد وجد بأن تركيز الأثلين يزداد بحوالي (100) مرة في وقت التنفس النضوجي عن الأوقات الأخرى لذا فالأثلين يسرع من إنضاج الثمار.

## التغذية المعدنية للنباتات وتقدير كمية العناصر الفلزية الرماد

### التغذية المعدنية للنباتات

بين الباحثون في مجال تغذية النبات بأن التربة هي الوسط المهم في تغذية النباتات ولكن من الصعب اجراء التجارب الدقيقة في السيطرة على دراسة العناصر الغذائية لذا ابتكروا عدة طرق لغرض السيطرة على العناصر غير الضرورية Nonessential Elements من العناصر الضرورية Essential Elements للنباتات من خلال استخدام عناصر غذائية داخلية في المحلول المغذي وكان للزراعة المائية الدور الاساسي في هذه الدراسات .

وقد قسمت العناصر الضرورية الى مجموعتين هما :

- 1- العناصر الكبرى **Macronutrients** : الكربون C ، الاوكسجين O<sub>2</sub> ، الهيدروجين H<sup>+</sup> ، لنتروجين N ، الفسفور P ، البوتاسيوم K ، الكالسيوم Ca ، المغنيسيوم Mg ، الكبريت S وقد اشرنا لها بالجزء النظري.
- 2- العناصر الصغرى **Micronutrients** : لا يحتاجها النبات بكميات كبيرة ولكن هي عناصر ضرورية ولا تدخل في تركيب المركبات الاساسية للنبات (الدهون ، البروتينات ، الكربوهيدرات) وتعمل كمساعدات انزيمية Cofactor وتشمل هذه العناصر الحديد Fe ، الزنك Zn ، البورون B ، النحاس Cu ، المنغنيز Mn ، الموليبدنيم Mo وقد اشرنا لها بالجزء النظري.

ويقال للعنصر المعدني بأنه ضروري للنبات (لكلا النوعين من العناصر الغذائية الكبرى والصغرى) إذا ما توفرت فيه الشروط الآتية:

- 1- حاجة النبات للعنصر تكون نوعية ولا يمكن تعويضه بعنصر اخر.
- 2- تأثير هذه العنصر مباشرة في عمليات ايض الطاقة وفي المواد العضوية المختلفة في النبات وليس فقط كنتيجة لتأثيره على العناصر الأخرى.
- 3- غياب هذه العناصر يسبب اختلال كبير في العمليات الفسلجية للنبات.
- 4- تكون هذه العناصر أساسيا للنمو الطبيعي والتكاثري للنبات اي ضروري لاكمال دورة حياة النبات ، وان أي من الظاهرتين لا يمكن أن تحدث عند غياب العنصر .

تؤدي العناصر المعدنية وظائف عدة عند امتصاصها من قبل النباتات نوضح بعض هذه الوظائف منها :

1. تنشيط الإنزيمات وبناء الكلوروفيل مثل الحديد و المنغنيز.
2. بناء الكلوروفيل والبروتينات الحمض النووية مثل النتروجين.
3. بناء الأحماض الأمينية كالكبريت.
4. زيادة للانقسام الخلوي و التنفس الخلوي ، كما يدخل في مركبات الطاقة ATP مثل الفسفور.
5. تنشيط وزيادة محتوى الأنزيمات مثل البوتاسيوم.

التشوهات والأضرار الناتجة عن اختلال التغذية المعدنية النقص أو الزيادة بالعناصر الغذائية يؤدي الى خلل في الوظائف الفسيولوجية للنباتات منها:

- 1- التغير في الشكل الظاهري للنبات مثل الذبول ، قصر في طول النبات والأفرع او موت القمة النامية للنبات.
- 2- ضعف نمو النبات بشكل عام قد يؤدي الى توقف النمو تماما وموت النبات أو البادرات .
- 3- تساقط الأوراق والتي قد تكون من أعلى إلى أسفل أي الموت التراجعي للأوراق كما في حالة الحديد أو من أسفل إلى أعلى كما في حالة عناصر البوتاسيوم، الفسفور والنيتروجين الجيدة الحركة في النبات.
- 4- جفاف او حروق على شكل تنخر قد يسبقها حدوث اصفرار على الأوراق.
- 5- تشوه في النموات الخضرية كما في حالة نقص البورون.
- 6- إطالة فترة النمو الخضري وقصر فترة النمو الثمري مع تأخر في النضج كما في حالة نقص الفسفور .
- 7- التشوهات و ضعف في تكوين الثمار أو الحبوب.

### تقدير كمية العناصر الغذائية في النباتات (الأوراق ، جذور ، ثمار) طريقة الهضم الرطب للعينات

- 1- تجفف العينات النباتية اوراق او جذور حسب نوع العينة المراد قياس العناصر فيها بواسطة فرن كهربائي على درجة حرارة 65 م ولحين ثبوت الوزن
- 2- طحن العينات بواسطة مطحنة كهربائية
- 3- اخذ 200 ملغم من كل عينة وتهضم باستخدام حامض الكبريتيك والبيروكلوريك
- 4- إضافة 3ml من حامض الكبريتيك المركز  $H_2SO_4$  وتركت العينات مدة 24 ساعة
- 5- أضيف لها 1ml من خليط حامض الكبريتيك و حامض البيروكلوريك المركزين بنسبة 1:1
- 6- توضع في دورق الهضم على صفيحة ساخنة Hot plate عند درجة حرارة 90 م لمدة (3 – 5) دقائق لحين ظهور أبخرة صفراء ، ثم تركت لمدة 5 دقائق لحين ظهور أبخرة بيضاء
- 7- تسخن على درجة حرارة مرتفعة لمدة (1 – 2) دقيقة
- 8- عند اكتمال عملية الهضم يكون محلول العينة رائقاً عديم اللون
- 9- بعدها يبرد وينقل إلى دورق حجمي 50ml ويكمل بالماء المقطر إلى العلامة ثم تقدير العناصر حسب ما يلي:

### أ) تقدير النيتروجين حسب طريقة كدال باستخدام جهاز Micro-Kjeldahl

- 1- يأخذ 10ml من كل عينة مهضومة
- 2- أضيف لها 10ml NaOH تركيز 40% وأجريت له عملية التقطير Distillation
- 3- جمعت الأمونيا المتحررة في بيكر حاوي على (25ml) حامض البوريك بتركيز 2% مع قطرتين من خليط دلائل (Methyl red و Bromocresal Green) المذابتان بالإيثانول
- 4- ثم سححت مع حامض HCl عياري 0.01 وطبقت المعادلة الآتية :

$$\%N = \frac{\text{حجم HCl المستهلك} \times \text{عيارية الحامض} \times 14 \times \text{حجم التخفيف}}{\text{حجم العينة المأخوذة عند التقطير} \times \text{وزن العينة المهضومة} \times 1000} \times 100$$

### ب) تقدير الفسفور

فيتم تقديره بطريقة الهضم الطري بإستعمال موليبيدات الأمونيوم وحامض الإسكوريك ثم تقاس نسبته بإستعمال جهاز جهاز المطياف الضوئي UV-visible Spectrophotometer

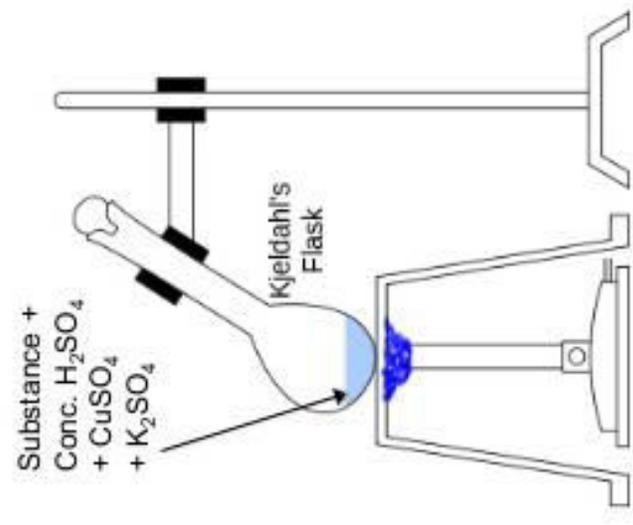
### ت) تقدير البوتاسيوم

يتم قياسه بإستخدام جهاز المطياف اللهبى Flamephotometer

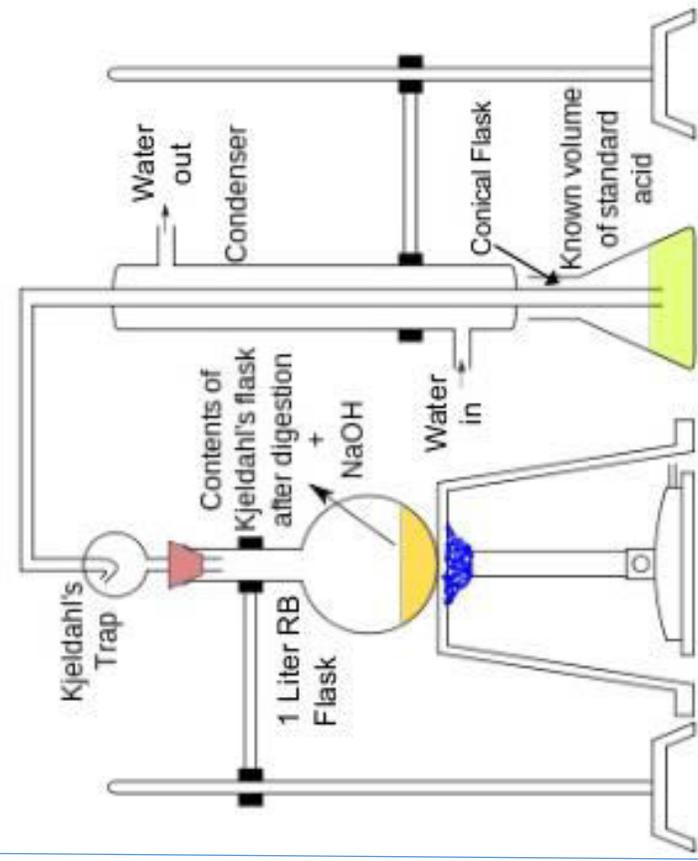
### ث) تقدير للمغنيسيوم ، الحديد، الزنك ، المنغنيز ، البورون وغيرها

يتم قياس تركيبها في الأوراق النباتية بمن خلال قياس محلول هضم العينات المراد قياس العناصر الغذائية فيها بإستخدام جهاز الإمتصاص الذري (Atomic Absorption Spectrophotometer)  
**ملاحظة :** توجد طريقة اخرى لتقدير كمية العناصر الفلزية الرماد حيث تأخذ العينة المراد تقدير محتواها ثم توضع في فرن الاحتراق (الموصدة) درجة حرارة 500م لمدة 5 – 6 ساعة أو على درجة 600م لمدة ساعتين ثم ياخذ الرماد وتقدر نسبة العناصر الموجودة فيه.

عملية الهضم Digestion



عملية التقطير Distillation



فيسل

رسم توضيحي لقياس النتروجين الكلي باستخدام جهاز كلدال Kjeldahl Micro

فصلية نبات الجوز العملي