البـاب الأول

الفصـل الأول

مبادئ العمل في المختبر

أن المختبرات بشكل عام يتم إنشائها وإعدادها لتؤدي وظيفة معينة بعلم ما ، فالمختبرات المختصة بعلوم الزراعة تقوم بالفحص والتحري وتشخيص للاعضاء والانسجة والخلاية النباتية والكشف عن مسببات الحالات غير الطبيعية ثم عزل وتنقية تلك المسببات لغرض دراستها وتشخيص وتصنيف والتثبت مما يمكن التحقق منه وصولا" للأهداف العلمية في خدمة وتطويرعلوم الزراعة ومن خلالها المجتمع. لذلك تتطلب المختبرات كفاءات علمية وعملية في الاستخدام الأمثل للتقانة العلمية وتفسير النتائج والدلائل حول الظاهرة قيد الدرس. فالخبرة العملية ضرورة ملحه بل تعزيز واجب للمعرفة العلمية وهذا يتطلب إعداد جيلا" مسلحا" بالمعرفة العلمية قادرا" على العمل بذلك العلم بخبرة عملية تقلل الكلفة والجهد والوقت اللازم للانجاز بما يتوفر لها من تقنية متاحة ولا تتطلب أرقى ما تم التوصل أليه. ويمكن إجمال بعض التوصيات للعمل المختبري بالنقاط الآتية:

1-على الطالب تجهيز نفسه باللوازم الآتية:

أ- دفتر مختبر لتسجيل الملاحظات مع قلم رصاص للرسم وممحاة ومبراة ومسطرة... الخ.

ب- صدرية مختبر بيضاء نظيفة، مع قطعة قماش قطنية نظيفة أيضا لاستعمالها في مسح أدوات تجربته.

2- ارتداء بدله العمل الخاصة بالمختبرات (صدرية المختبر) التي تسهل العمل وتحفظ ملابس القائم بالعمل من المواد الكيميائية والكواشف التي يمكن أن تتلفها ، إضافة إلى إن بدله العمل هذه يمكن أن تقلل من نقل الملوثات بالملابس من خارج المختبر.

3-يراعى الحذر أثناء العمل وعدم لمس الأعين والفم والأنف بالأيدي بعد التعامل بالمواد الكيميائية لتلافي أضرار مثل تلك المواد وعدم تناول الطعام والشراب داخل المختبر.

4-تعقيم سطوح المناضد وأدوات العمل وكذلك الأيدي قبل بدء العمل بأحد المحاليل المعقمة أو المواد المطهرة الفعالة ضد الأحياء المجهرية ، كذلك إجراء مثل هذا التعقيم بعد الانتهاء من العمل المختبري.

5-إتلاف العينات (الأطباق أو أنابيب الاختبار) التي تحوي أوساطا زرعيه ظهر فيها تلوث كذلك المواد التي انتهى العمل فيها باستعمال البخار المنساب والضغط في جهاز المؤصدة Autoclave مدة لا تقل عن 30 دقيقة.

6-تنظيف أدوات المختبر والزجاجيات المستعملة بعد إتلاف محتوياتها كما في الفقرة السابقة . يتم التنظيف الذي يعد ركنا" أساسيا" في دقة النتائج للعمل المختبري. ويمكن الاستدلال على نظافة الأدوات والأوعية الزجاجية وذلك من خلال ملئها بالماء المقطر ثم إفراغ الماء منها فإذا تشكلت قطرات من الماء المقطر على الجدران الداخلية للأدوات والأواني فهذه إشارة إلى وجود الأوساخ ويجب إزالتها بالتنظيف الجيد حتى يلاحظ تكون غشاء رقيق متجانس من الماء على الجدران الداخلية للأواني بعد إفراغ الماء منها ولا تتشكل القطرات. وتعتبر الطريقة الأفضل التي تتبع غالبا في عملية تنظيف الأدوات بان يتم ملئ الأدوات المختبرية بمزيج الغسيل Cleaning mixture أو مزيج كرومك Chromic mixture والذي يترك فيها لبضع ساعات أو طوال الليل Over night يفرغ مزيج الغسيل من الأدوات إلى الحاوية التي يحفظ فيها لإعادة استعماله مرات عدة كونه محلول مشبع تقريبا يتكون من مسحوق ثاني كرومات البوتاسيوم $K_2Cr_2O_7$ أو ثاني كرومات الصوديوم $Na_2Cr_2O_7.2H_2O$ في حامض الكبريتيك المركز H_2SO_4. وتفضل ثاني كرومات الصوديوم كونها أكثر ذوبانا (70غرام/لتر) بينما ثاني كرومات البوتاسيوم (5غرام/لتر) كما أن ثاني كرومات الصوديوم ارخص ثمنا. كما يجب مراعاة إن يتم ترشيح مزيج الغسيل بين حين وآخر باستعمال صوف الزجاج Glass wool للتخلص من بعض الدقائق غير الذائبة من ثاني الكرومات التي يمكن إن تتسبب في سد المنافذ الصغيرة للزجاجيات عند غسلها بمحلول الغسيل كما في السحاحة والماصة مثلا" ، لذلك يفضل تجفيف مثل هذه الأدوات بعد الغسل واستعمال نفخ الهواء بداخلها أو بتنظيف فتحاتها بمادة الأستون بعد غسلها بالماء المقطر وعدم تجفيفها بالأفران ذات الحرارة المرتفعة عدى تلك الأدوات المصنوعة من الزجاج المقاوم للحرارة Pyrex حيث يتم تجفيفها عند درجة حرارة بين 100 – 120 درجة مئوية.

أما في حالة الأدوات المختبرية الملوثة بمواد دهنية لزجة والتي يصعب إزالتها بمزيج الغسيل فيستعمل مزيج آخر يتكون من حامض الكبريتيك المركز وحامض النتريك الداخن Fuming HNO_3. أو يمكن استعمال الماء الدافئ والصابون لمدة (15) خمسة عشر دقيقة وبعدها تغسل الأدوات بالماء العادي ثم تغسل بحامض الهيدروكلوريك المركز HCl بعدها تغسل جيدا" بالماء المقطر. ويجب توخي الحذر عند العمل بمزيج الغسيل كونه مادة محرقة للجلد وتالفة للملابس لذلك في حالة سقوط قطرات منه على اليدين أو الوجه يجب غسل المنطقة بكمية كبيرة من الماء ثم غسلها بمحلول بيكاربونات الصوديوم $NaHCO_3$.

كما يمكن في بعض الحالات أن يُستعمل مزيج غسيل يتكون من حجوم متساوية من (0.1N) من محلول برمنكات البوتاسيوم وحامض الكبريتيك المركز. وقد يستعمل محلول قلوي لبرمنكات البوتاسيوم أو محلول كحولي لـ KOH أو NaOH . وتزال المادة الدهنية غالبا بواسطة محاليل قلوية.

كيفية تحضير مزيج الغسيل

يتم مزج في دورق مخروطي مصنوع من الزجاج المقاوم للحرارة وزن 10 إلى 15 غراما" من ثاني كرومات البوتاسيوم في 15 مللتر من الماء المقطر ثم يضاف له ببطيء مع الرج المستمر حامض الكبريتيك المركز وعلى فترات مع تبريد الدورق بشكل مستمر فيلاحظ أن محتويات الدورق تصبح شبه صلبة وذات كتلة حمراء اللون يضاف بعد ذلك كمية كافية من حامض الكبريتيك المركز حتى تذوب الكتلة الحمراء ويتكون محلول متجانس حيث يترك الدورق ليبرد بعدها ينقل المزيج إلى قنينة يخزن فيها لحين الاستعمال المتكرر ، حيث يستعمل محلول الغسيل عدة مرات يعاد إلى قنينة الخزن بعد كل مرة استعمال حتى يصبح لون المحلول اخضر نتيجة اختزال حامض الكروميك إلى ايون الكروميك الأخضر اللون (Cr^{3+}) عندها يصبح المحلول عديم الجدوى ويهمل ثم يحضر بدلا" عنه محلولا" آخر.

الفصل الثاني

التعقيم Sterilization

هو استعمال أي من الطرق التي بواسطتها يتم القضاء على جميع الأحياء الدقيقة في المادة التي يراد تعقيمها كما في استعمال درجات الحرارة الجافة المرتفعة أكثر من 160°م أو الحرارة الرطبة (كبخار مع الضغط) أو استعمال الإشعاع.

التطهير Disinfection

هو استعمال الطرق التي يمكن بواسطتها القضاء على جميع النمو الخضري للكائنات الحية الدقيقة وإيقاف نمو الأحياء الأخرى التي لها القابلية على المقاومة لمثل تلك الطرق أو المواد المستعملة لهذا الغرض كما في البسترة Pasteurization على درجة حرارة لا تتجاوز 70°م.

بعض طرق التعقيم الشائعة الاستعمال

أولا– التعقيم بالحرارة ومنها :

1–الحرارة الرطبة وتكون بأحد الطرق الآتية:

أ– الماء المغلي : تستعمل طريقة تعقيم أدوات العمل المختبرية المعدنية منها من خلال غليها بالماء على درجة 100°م حيث يتم القضاء على جميع النمو الخضري للبكتريا والفطريات ألا أن بعض الابواغ لها القابلية على مقاومة مثل هذه الظروف.

ب– البخار مع الضغط : يستعمل جهاز المؤصدة Autoclave لهذا الغرض حيث يتم فيه تعقيم الأوساط الزرعية السائلة والصلبة من خلال تعريض المواد للبخار الذي ينساب من مراجل الجهاز ويتم التعقيم بصيغتين هما :

*– **التعقيم بالبخار تحت الضغط الاعتيادي:** فبعد وضع المواد التي يراد تعقيمها داخل الجهاز يتم تشغيله لمدة ساعة بدون طرد الهواء بعد بدء ارتفاع درجة حرارة الجهاز وبالتالي ستكون درجة حرارة التعقيم النهائية بحدود 105 °م وتكرر العملية لثلاثة أيام.

– **التعقيم بالبخار تحت الضغط : في هذه الطريقة بعد تشغيل جهاز المؤصدة وارتفاع درجة الحرارة يفتح المنفذ الخاص بطرد الهواء المحصور في داخل الجهاز وبعد بدء خروج البخار يغلق الصمام حيث ترتفع درجة الحرارة الى 121 °م وتحت ضغط بخار 15 باون/انج^2 ويتم حساب وقت التعقيم من اللحظة التي يبدأ بها الجهاز بالوصول إلى هاتين النقطتين تستعمل هذه الطريقة في تعقيم أدوات العمل المختبري المعدنية والأواني المختبرية والزجاجيات والأوساط الزرعية والأقمشة والضمادات.

2- الحرارة الجافة : يتم إتباع هذه الطريقة في تعقيم الأدوات المختبرية المعدنية والزجاجيات التي لا تتأثر بالحرارة باستعمال فرن كهربائي مزود بمقاييس لضبط درجة الحرارة والوقت اللازم للتعقيم حيث يتم التعقيم على درجة حرارة 160 °م لمدة ساعة واحدة تعتبر كافية للقضاء على كافة الجراثيم والابواغ ، كما يمكن إن تؤمن هذه الأفران درجة حرارة تصل إلى أكثر من 250 °م.

ثانيا : التعقيم بالمواد الكيمياوية : ومنها :

1- المركبات الفينولية Phenols

تستعمل المواد الفينولية بنسبة 5% مذابة في الماء لتعقيم المختبرات حيث أن هذه المواد لا تتأثر بزيادة تركيز البكتريا كما إنها لا تتأثر بوجود مواد عضوية مع البكتريا ومثال على هذه المواد حامض الكاربونيك (C_6H_5-OH) ولأجل زيادة فعالية هذه المواد في التعقيم من خلال تقليل ذوبانها في الماء فقد اشتقت منها مواد عديدة مثل Lysol ، كما يدخل الكلورين مع الفينول في مادة معقمة ممزوجة مع الصابون كما في مادة Hexachlorophene.

2- الصابون ومركبات الامونيوم

يستعمل الصابون في غسل وتطهير الأيدي من الجراثيم على سطح الجلد ، أما مركبات الامونيوم فتستعمل لتعقيم السطوح وتطهير الأيدي من خلال ترك طبقة رقيقة معقمة على السطح المعامل بها كما أنها غير سامة مقارنة بالمعقمات الأخرى كما يسهل تعادلها بالصابون مثل مادة Cetavlon.

3-الكحول Alcohol

أن الفعالية التعقيمية للكحول الاثيلي النقي 100% Ethyl Alcohol ضعيفة ألا إنها تزداد عند تخفيف الكحول بالماء ليصبح تركيزه 70% حيث يصبح قويا" في التأثير وسريعا" في المفعول حيث يسبب قتل البكتريا خلال ثوان وغالبا" يستعمل في تعقيم الأيدي والأسطح إلا انه لا يؤثر في الابواغ.

4-الهالوجينات Halogens

تستعمل بعض هذه المواد في تعقيم مياه الشرب كمادة الكلورين التي تضاف بمعدل 1 – 2جزء بالمليون إلى الماء ليصبح معقما" بعد نصف ساعة ويعود عمل الكلورين إلى الطبيعة المؤكسدة عند خلطه بالماء وتكوينه حامض الهايبوكلورس Hypochlorous. ومن المواد الأخرى التي تستعمل في قتل البكتريا على الأسطح يستعمل اليود 1 – 2% مذابا" في الكحول المخفف 70% لكن هذا قد يسبب التهاب سطح الجلد ولا يؤثر على الابواغ.

5-الفورمالين Formalin

الفورمالديهايد (HCHO) غاز مذاب في الماء بنسبة 40% حيث يسمى بالفورمالين وهو مادة تعقيم قاتلة للأحياء الدقيقة والابواغ إلا إن المدة اللازمة للقضاء على الابواغ طويلة فتحتاج عدة أيام ويستعمل بنسبة 0.5% إلى 2% لتعقيم الأشياء التي تتلف بالحرارة أو لقتل ملوثات المختبرات والهواء الداخلي.

ثالثا – التعقيم بالترشيح Filtration

تستعمل أنواع عديدة من المرشحات داخل المختبرات العلمية لتعقيم المواد التي يتعذر معها استخدام طرق التعقيم الأخرى. فبعض تلك المرشحات تستعمل لتنقية السوائل من الجزئيات الكبيرة والبعض الأخر يستعمل لفصل الجزئيات الأصغر بينما تستعمل مرشحات Milliporefilter بقطر ثقوب 0.45 مايكرون لفصل الابواغ وهناك مرشحات لعزل الفايروسات من المصول والمواد المنظمة للنمو التي تضاف للأوساط الزرعيه أو تعقيم الهواء في أجهزة العمل المختبري تحت ظروف التعقيم Laminar flow cabinet منضدة انسياب الهواء الطبقي.

رابعا – التعقيم بالإشعاع Radiation

يستعمل الإشعاع الشمسي في قتل بعض الجراثيم غير أن التأثير القاتل يعود إلى الأشعة فوق البنفسجية Ultra Violet Ray حيث تمتص هذه الأشعة في الجزيئات الكيمياوية الملائمة (الأحماض النووية Nucleic acids) كما إن هذه الإشعاعات تولد غاز الأوزون O_3 في الهواء وتولد H_2O_2 في الماء مما يؤدي إلى القضاء على الأحياء الدقيقة. كما يمكن تعقيم الجو الداخلي للمختبرات باستعمال مصابيح الأشعة فوق البنفسجية التي تنتج أمواجا" ذات تأثير قاتل للجراثيم.

الفصل الثالث

المجهر The microscope

عبارة عن جهاز بصري مكون من أجزاء دقيقة حساسة وأجزاء مساعدة تعمل على تكبير الأجسام التي يتم فحصها عدة مرات لتسهيل دراستها. فتكون مزودة بعدسات عينية وأخرى شيئية والأجزاء المساعدة التي تسهل كشف وتوضيح مالا تستطيع العين المجردة رؤيته مما يوجب على القائم بالعمل على المجهر الحرص لتعلم كيفية الاستعمال الأمثل والتعرف على أجزاءه ووظائفها.شكل (1 و2) .

أجزاء ومكونات المجهر

1-عدسات عينية Eye Pieces : هي عدسة زجاجية واحدة في حالة المجهر ذو العين الواحدة تكون ذات قوة تكبير 5 أو 10 مرات (5X or 10X) وفي حالة المجهر ذو العينين يكون فيه عدستين عينية ذات قوة تكبير 6 – 8 مرات (6 – 8 X) يتم تثبيت هذه العدسات في أعلى اسطوانة معدنية مجوفة تدعى الجسم الأنبوبي Body tube (جزء متحرك) حيث يتم النظر من خلاله إلى النموذج الذي يراد فحصه.

2-الجسم الأنبوبي Body tube : عبارة عن تركيب أنبوبي بطول يتراوح بين 160 مليمتر أو 170 مليمتر حسب نوع الجهاز والشركة المصنعة يتم تثبيت العدسة العينية في الجهة العليا منه. أما الجزء الأسفل منه فهو عبارة عن أنبوب يتصل بالقرص الدوار الذي يحمل العدسات الشيئية.

3- قطعة الأنف الدوارة (القرص الدوار) Revolving nose-piece: هي الجزء الذي يمكن من خلاله تغيير قوة التكبير فهي تحوي على ثلاثة أو أربعة مواقع لتثبيت عدسات شيئية فيها.

4-عدسات شيئية Objectives : هي تراكيب زجاجية عدسية توجد في إطارات معدنية للمحافظة عليه وتكون على أنواع عدة منها :

أ- **عدسة شيئية ذات قوة تكبير صغرى (L.P) Low power objective** تكون قوة التكبير لها 3.5 مرة (3.5X).

ب- **عدسة شيئية ذات قوة تكبير صغرى (L.P)** تكون قوة تكبيرها 10 مرات (10X).

ج- **عدسة شيئية ذات قوة تكبير كبرى (H.P) High power objective** قوة تكبيرها 40 مرة (40X).

د- **عدسة شيئية زيتية Oil immersion** قوة تكبيرها 100 مرة (100X) وهي تستعمل مع الزيت المخصص لهذا الغرض.

إن استعمال العدسة الشيئية الصغرى يؤدي إلى مشاهدة جزء كبير من النموذج لكن قوة التكبير تكون ضعيفة. بينما استعمال العدسة الشيئية الكبرى يجعل الجزء المنظور صغير لكن قوة التكبير تكون اكبر. وقد لاتوجد هذه العدسات في المجهر الذي يتوفر وإنما توجد ثلاث عدسات فقط هي عدسات شيئية صغرى وعدسة شيئية كبرى والعدسة الزيتية التي تتميز بوجود خط اسود أو خط احمر على هيئة دائرة عند نهايتها.

5-الذراع Arm : تركيب منحني يجلس فوق عمود المجهر ويثبت عليه من الأعلى القطعة الدوارة كما يثبت عليه المسرح.

6-المسرح Stage : عبارة عن سطح مستوي يقع في النهاية السفلى للذراع ويوجد في منتصفها ثقب دائري لتمرير الضوء من مصدره إلى النموذج قيد الفحص يضاف له تصميم معدني ذو لولب ينظم الحركة يسمى المسرح الآلي Mechanical stage حيث يمكن تحريك الشريحة الزجاجية أو عينة الفحص إلى جميع الاتجاهات (يمين وشمال. أمام وخلف).

7-المكثف Condenser: تصميم موقعه تحت المسرح Sub-stage يحوي عدسة مكثفة تعمل على تركيز الضوء على النموذج قيد الفحص.

8-الحاجز (الحجاب) Diaphragm : تركيب يقع تحت المكثف يمكن بواسطته التحكم بقطر الفتحة الوسطية للحاجز والتي من خلالها يتم السيطرة على زاوية سقوط الضوء النافذ خلال العدسة المكثفة ويمكن رفع مستوى المكثف أو خفض مستواه بواسطة لولب جانبي يسمى منظم المكثف Condenser Adjustment.

9-المنظم التمهيدي Coarse adjustment : تركيب بهيئة عجلة يستعمل لتحريك المسرح إلى الأعلى والى الأسفل ويكون استعماله مع العدسة الشيئية الصغرى فقط لان حركة بسيطة به تؤدي إلى رفع وخفض المسرح مسافة كبيرة.

10- المنظم الدقيق Fine adjustment : تركيب يشبه المنظم التمهيدي لكنه اصغر حجما ويقع أسفل منه يستعمل لتوضيح الصورة بشكل دقيق عند الفحص بالعدسة الشيئية الكبرى والعدسة الشيئية الزيتية لان دورة كاملة به تؤدي إلى رفع و خفض المسرح مسافة قليلة جدا".

11- العمود Pillar : تركيب يوصل الذراع بالقدم (القاعدة) يثبت عليه المنظم التمهيدي والدقيق.

12- القدم أو القاعدة Foot or base : تركيب قرصي ثقيل يستند عليه المجهر يجلس على سطحه المصباح أو المرآة.

13- المرآة Mirror : موقعها تحت الحاجز أو المكثف وهي ذات وجهين احدهما مستوي يستعمل في حالة وجود العدسة المكثفة. والوجه الآخر مقعر يستعمل عند عدم وجود مكثف وذلك لتركيز الضوء.

كيفية استعمال المجهر

لنفرض أن المجهر بحالة جيدة ونظافة تامة وللعمل عليه نبدأ بالتسلل الآتي:

1- بالنسبة للمجهر الكهربائي ذات المصباح. يربط بالتيار الكهربائي ويفتح الضوء وتنظم شدة الضوء خلال العدسة الشيئية من خلال تحريك المصباح ليستقر نحو مركز فتحة المكثف.

2- العمل على جعل العدسة الشيئية الصغرى فوق فتحة المسرح والتأكد من ثباتها بموقعها الصحيح.

3- العمل على تحديد موقع الشريحة أو موقع الجسم المراد فحصه بحيث يكون مقابل لمركز فتحة المسرح.

4- يتم تحريك المسرح إلى أعلى بواسطة المنظم التمهيدي إلى إن يقف المسرح ثم يتم النظر خلال العدسة العينية حتى يتم مشاهدة الصورة وللتوضيح يستعمل المنظم الدقيق.

5- عندما يراد صورة أكثر وضوحا" للجسم تستعمل العدسة الشيئية الكبرى من خلال تحريك القرص الدوار الذي يحمل العدسات الشيئية باتجاه معاكس لحركة عقرب الساعة مع التأكد من اخذ العدسة موقعها الصحيح وذلك عند سماع صوت خفيف يدل على ذلك ، علما أن المساحة التي تشاهد في هذه الحالة هي جزء صغير من المساحة الكبيرة للنموذج الذي شاهدته تحت القوة الصغرى. وحاول أن تحرك المنظم الدقيق لزيادة وضوح الصورة.

6- للحصول على تفاصيل أكثر دقة للجسم المنظور اعمل على اختيار الإضاءة المناسبة (لان شدة الإضاءة أو ضعفها) قد يخفي بعض التفاصيل ويتم ذلك من خلال المكثف أو المرآة.

7- بعد انتهاء الفحص اعد العدسة الشيئية ذات القوة الصغرى إلى موقعها ، ثم ارفع الشريحة من فوق المسرح ، وأطفأ المصباح ثم امسح المجهر واعد تغليفه بغطاء عن الأتربة.

*ملاحظة: عدم استعمال المنظم التمهيدي مع العدسة الشيئية الكبرى أو العدسة الشيئية الزيتية فلربما تكسر الشريحة ، كما يجب استعمال العينين وليس النظر بعين واحدة.

كيفية حساب قوة تكبير المجهر

1- أن قوة تكبير المجهر التقريبية هي حاصل ضرب قوة تكبير العدسة الشيئية X قوة تكبير العدسة العينية.

2- أما قوة التكبير النهائية للمجهر والتي تعتمد على العوامل الآتية:

أ- البعد البؤري للعدسة الشيئية.

ب- قوة تكبير العدسة العينية.

ج- المسافة بين العدسة الشيئية والصورة المتكونة (طول الاسطوانة)

أن المادة التي يراد فحصها تبعد عن العدسة الشيئية مسافة اكبر بقليل من بعدها البؤري حيث تتكون صورة مكبرة مقلوبة وحقيقية في القسم العلوي من الاسطوانة وهذه الصورة تتكبر أكثر من خلال العدسة العينية لذلك يكون التكبير النهائي للصورة المادة هو

حجم الصورة   بعد الصورة عن العدسة الشيئية   طول الاسطوانة

قوة تكبير العدسة الشيئية= ———= ——————— = ————

حجم المادة   بعدالمادة عن العدسة الشيئية   البعد البؤري للعدسة الشيئية

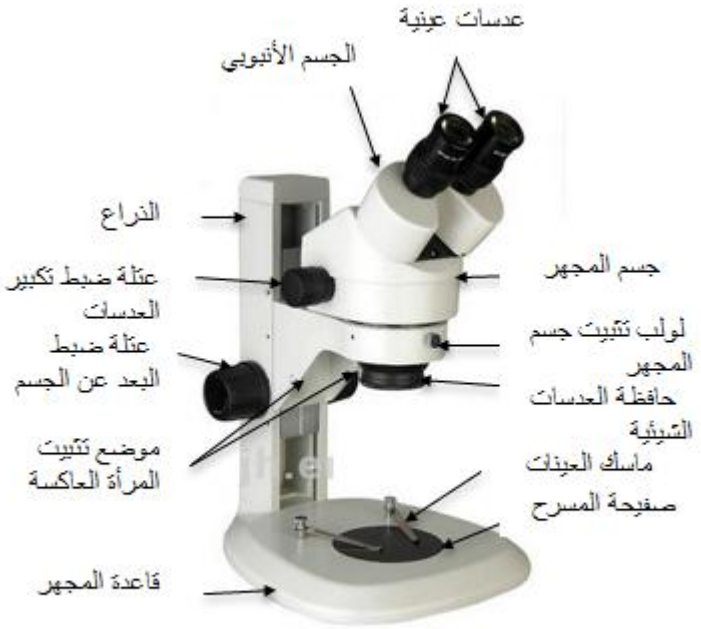
الحل:

قوة تكبير العدسة الشيئية = طول الاسطوانة / البعد البؤري للعدسة الشيئية = 160 / 16 = 10 مرات تكبير.

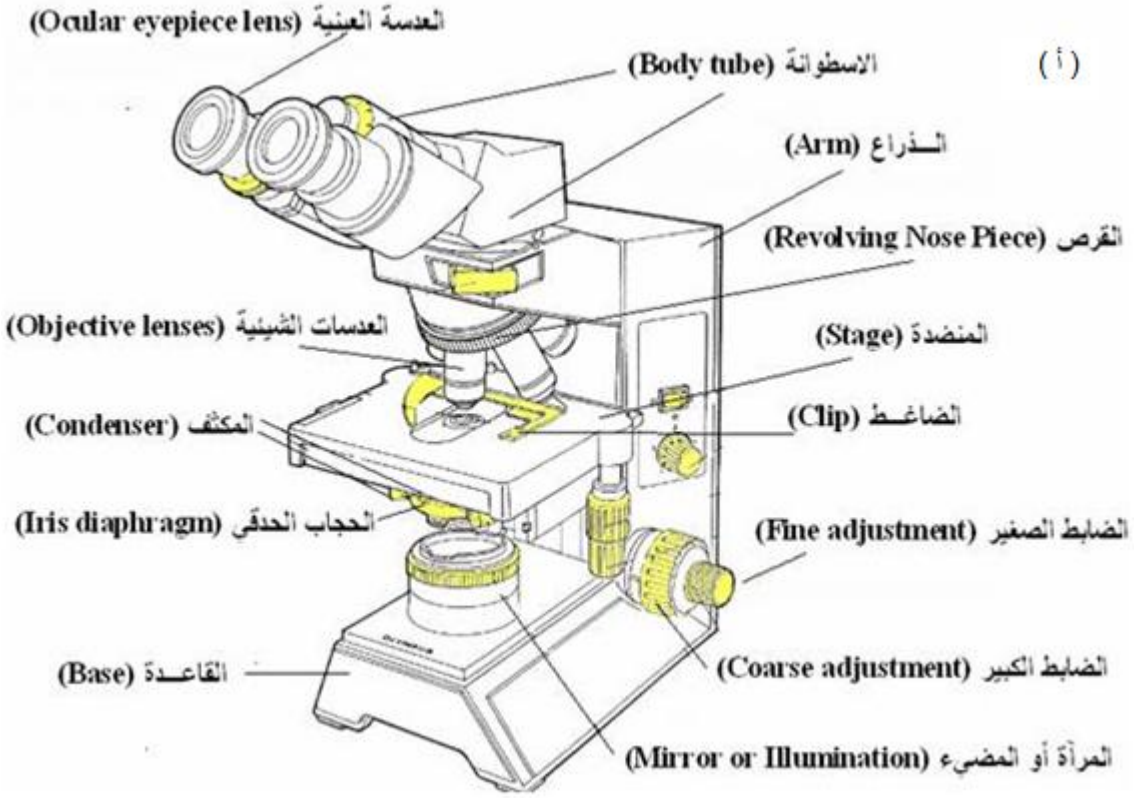
قوة تكبير العدسة العينية = مرات تكبير.

إذن التكبير النهائي = 10 X 10 = 100 مرة تكبير.

إذن التكبير النهائي = (طول الاسطوانة / البعد البؤري للعدسة الشيئية) X قوة تكبير العدسة العينية.



شكل (1) المجهر البسيط



شكل (2 أ ، ب) المجهر المركب

تحضير الشرائح

اولا – كيفية عمل مقطع من النسيج النباتي :

1- خذ عضو نباتي او جزء منه حديث القطع من النبات الاصل وبحالة طازجة.

2- عند توفرجهاز مايكروتوم Microtom يتم أستعماله في الحصول على المقاطع المطلوبة بأفضل المواصفات للفحص ، وفي حالة عدم توفره يمكن أجراء تقطيع العضو النباتي للحصول على مقاطع بأقل سمك يمكن معه مشاهدة أجزاء المقطع المطلوبة بوضوح بأستعمال المجهر ((يجب ان يكون سمك المقطع أقل من 20 مايكرتون)) ويتحقق ذلك عن طريق تكرار المحاولة بأستخدام شفرة التشريح وعند عدم توفرها يمكن استعمال شفرة حلاقة .

3- للحصول على مقاطع منتظمة القطع بسمك يتراوح بين 8- 12 مايكروتون يمكن أستعمال عدد من شفرات الحلاقة تربط فوق بعضها بخيط بكرة الخياط على أن يمرر الخيط بين كل شفرة واخرى ليتم الحصول على السمك المطلوب من مقاطع النسيج .

4- ضع الجزء النباتي الذي تم الحصول عليه لتحضير المقاطع فوق شريحة زجاجية وامسك مجموعة شفرات الحلاقة باليد اليمنى وبحركة سريعة ومتوازية ومتتالية مرر الشفرات خلال الجزء النباتي ليتم الحصول على عدد من المقاطع . تكون المقاطع الرقيقة مناسبة للفحص .

5- أستعمل فرشاة ناعمة او ملقط لاختيار المقاطع الافضل تجانسا من حيث القطع وسمك المقطع .

ثانيا - كيفية تحضير الشريحة للفحص المجهري :- وتكون على نوعين هما

<u>الاول</u> : شريحة مؤقتة : ويتم تحضيرها وفق التسلسل الاتي :

1- خذ شريحة زجاجية slide نظيفة وجافة وخذ معها غطاء شريحة cover slid .

2- ضع قطرة ماء مقطر على سطح الشريحة الزجاجية وفي وسطها .

3- انقل واحد من افضل مقاطع النسيج النباتي التي قمت بعملها وضعه في قطرة الماء فوق الشريحة الزجاجية .

4- ضع غطاء الشريحة فوق مقطع النسيج على ان يكون وضع الغطاء بشكل مائل بزاوية 45 درجة وبهدوء لتلافي تجمع بعض فقاعات الهواء تحت غطاء الشريحة التي تتسبب في تقليل وضوح النموذج .

5- تتخلص من الماء الزائد الذي قد يخرج خارج غطاء الشريحة بأستعمال ورق النشاف .وفي حالة طفح جزء من الماء فوق غطاء الشريحة فلا بد من ابدال الغطاء وأعادة العمل بشكل جديد من الخطوة الاولى .

6- وضع شريحة على مسرح المجهر وافحص تحت االعدسة ذات القوة الصغرى ثم للوضوح الاكثر استعمل العدسة ذات القوة الكبرى .

7- قد تحتاج في بعض الاحيان الى تصبيغ بعض اجزاء مقطع النسيج ولهذا الغرض تستعمل صبغات خاصة مثل محلول اليود في يوديد البوتاسيوم IKI , صبغة الاخضر السريع Fast green وصبغة سودان 3 sudan وصبغة السفرانين safranin ويتم التصبيغ كالاتي :

يوجد نمطين من التصبيغ بعد تحظير الشريحة هما :

1- وضع قطرة من الصبغة فوق الشريحة الزجاجية بدلا من قطرة الماء عند تحظير النوذج ثم ضع المقطع النباتي فيها بعدها ضع غطاء الشريحة كما سبق شرحه .

2- ضع قطرة ماء فوق الشريحة الزجاجية ثم ضع المقطع النباتي فيها وبعدها غطاء الشريحة بعد ذلك يتم وضع قطرة من الصبغة على احد حافات غطاء الشريحة وبأستعمال ورق النشاف الذي يوضع من الحهة المقابلة للجهة التي يتم وضع الصبغة عليها حيث يعمل ورق النشاف على امتصاص الماء من حول المقطع النباتي مما يسمح بسحب الصبغة ودخولها تحت غطاء الشريحة حول المقطع النباتي لتحل محل الماء الذي تم سحبه بواسطة ورق النشاف مما يسمح باصطباغ المقطع النباتي ويصبح جاهز للفحص .

<u>الثاني</u>: شريحة دائمة : ويتم تحظيرها وفق التلسل الاتي :

1- انقل المقطع النباتي الافضل الذي تم الحصول عليه واختياره الى طبق بتري petri dish يحنوي كحول اثيلي Ethyl alchol تركيز 30% واتركه لمدة 15 دقيقة

2- أنقل المقطع الى طبق بتري يحتوي كحول اثيلي تركيز 50% واتركه مدة 15 دقيقة ايضا .

3- أنقل مقطع النسيج النباتي الى طبق بتري جديد جاف للتصبيغ وأضف اليه صبغة السفرانين safranin ((يتم تحظيرها من اذابة 0.5 غم من الصبغة في 100سم^3 من الكحول الاثيلي المطلق ويجب تحظيرها قبل 24 ساعة قبل الاستعمال)) تترك المقطع النسيج في محلول الصبغة لمدة 30- 45 دقيقة .

4- أنقل مقطع النسيج النباتي الى طبق بتري يحتوي كحول اثيلي تركيز 50% واتركه مدة 5 دقائق لتخليصه من الصبغه الزائدة وكرر هذه الخطوة ثلاث مرات .

5- أنقل مقطع النسيج النباتي الى طبق بتري يحتوي كحول اثيلي تركيزه 70% ثم طبق بتري يحتوي كحول اثيلي تركيزه 80% ثم الى طبق بتري يحتوي كحول اثيلي تركيزه 95% واتركه في كل تركيز مدة 15 دقيقة .

6- أنقل مقطع النسيج النباتي الى طبق بتري وأضف اليه صبغة الاخضر السريع fast green ((يتم تحظيرها من اذابة 0.5 غم من الصبغة في 100 سم^3 من الكحول الاثيلي المطلق)) وتترك المقاطع في محلول الصبغة لمدة دقيقة واحدة .

7- أنقل مقطع النسيج النباتي ثلاث مرات في كحول اثيلي مطلق absolute alcohol لمدة دقيقة واحدة في كل مرة لازالة الصبغة الزائدة ومواصلة عملية سحب الماءمن نسيج المقاطع.

8- أنقل مقطع النسيج النباتي ثلاث مرات في زايلول مطلق xylol لمدة دقيقة واحدة في كل مرة لاكمال عملية سحب الماء وأظهار الصبغتين في المقاطع .

9- أنقل مقطع النسيج النباتي وضعه فوق الشريحة الزجاجية وفي وسط الشريحة مستخدما فرشاة ناعمة او ملقط في عملية النقل.

10- ضع او قطره او قطرتين من مادة التحميل بلسم كندا Canada balsam على مقطع النسيج ثم ضع غطاء الشريحة فوق النموذج .

11- في حالة تلون المقطع بلون ضبابي بعد وضع غطاء الشريحة يجب العودة بتحضير المقطع للخطوة الاولى التي استعملت فيها الكحول الاثيلي المطلق لاتمام سحب الماء ثم استمر بالخطوات اللاحقة .

12- ضع الشريحة على صفيحة ساخنة hot plate على درجة حرارة 40 ^{5}م واتركها مدة 24 ساعة لكي يتجانس توزيع مادة بلسم كندا ويتم التخلص من فقاعات الهواء .

13- نظف الشريحة من الكمية الزائدة من بلسم كندا باستعمال الزايلول والفرشاة .

14- ضع علامة label على الشريحة تتضمن كافة المعلومات المطلوبة لتوضيحها .

الباب الثاني

الفصل الأول

المحاليل The solutions

أنواعها ، طرق التعبير عن التراكيز ، كيفية تحضير بعض المحاليل

تتواجد المادة بواحدة من الحالات الثلاث المعروفة وهي الحالة الغازية أو الحالة السائلة أو الحالة الصلبة فالجزيئات المكونة للمادة تتحرك بحرية عندما تكون المادة بالحالة الغازية وذلك لعدم وجود قوة تجاذب بين جزيئاتها وبالتالي فمثل هذه المواد ليس لها شكل ثابت ولا حجم محدد. أما جزيئات المادة وهي بحالة سائلة فأنها تظهر قوة تجاذب داخلية تكون كافية لتعطي الحالة السائلة حجم محدد بينما يبقى شكل المادة متغير يأخذ شكل الإناء الذي توضع فيه المادة السائلة ، وعندما تكون قوة التجاذب بين جزيئات المادة أعظم مما هو عليه في الحالة السائلة للمادة فان ذلك سيؤدي إلى إعطاء المادة شكلا" وحجما" محددين فتكون المادة في الحالة الصلبة. إن قوة التجاذب بين جزيئتين غير متشابهتين تعرف بقوة التلاصق Adhesion أما قوة التجاذب بين جزيئتين متشابهتين فتعرف بقوة التماسك Cohesion. فقوة التماسك بين جزيئات السائل تؤدي إلى حمايته من الفقد السطحي من خلال الشد السطحي للسائل والذي يختلف من سائل إلى أخر ويتناسب الشد السطحي عكسيا مع درجة الحرارة. إن معظم دراسات الصفات النوعية والكمية تتطلب التعامل مع المواد وهي بهيئة محاليل وذلك لتسهيل التعامل بالقياسات في حسابات النتائج المطلوب الحصول عليها وهذا يوجب تحديد تعريف ما المقصود بالمحلول ؟ وماهي أنواع المحاليل ؟ وكيفية تحديد تراكيزها ؟

فالمحلول Solution عبارة عن مادة تتكون من مزج مادتين أو أكثر تكون فيها كل جزيئات أو ايونات احد المادتين منفصلة عن جزيئات وايونات المادة الأخرى حيث تنتشر خلال وسط المادة الأخرى، المادة المنتشرة جزيئاتها أو ايوناتها تسمى المذاب Solute والمادة التي تنتشر فيها جزيئات المذاب تسمى المذيب Solvent. ونتيجة لاختلاف المواد من حيث طبيعة تكوين جزيئاتها وحجم تلك الجزيئات فان المحاليل التي تتكون من هذه المواد ستكون مختلفة في طبيعتها وعدد من صفاتها لذلك تقسم المحاليل إلى عدة أنواع منها:

أنواع المحاليل :

1-المحاليل الحقيقية True solutions : هي المحاليل التي تنتشر فيها جزيئات المادة الذائبة في جميع أجزاء المذيب على هيئة جزيئات وايونات في غاية من الدقة بالحجم بحيث

لايمكن رؤيتها بالعين المجردة أو بأية وسيلة يمكن الاستعانة بها لتوضيح الرؤية عرفت لحد الآن. كما في حالة إذابة قليل من السكر أو ملح الطعام في الماء مع التحريك فيتكون محلولا حقيقيا.

2-المحاليل العالقة (المعلق) Suspensions : وهي المحاليل التي تنتشر فيها حبيبات المادة الذائبة في جميع أجزاء المذيب ويكون حجم حبيبات المذاب من الكبر بحيث يمكن رؤيتها بواسطة المجهر وعندما يترك المحلول المعلق لفترة من الزمن فان حبيبات المذاب تهبط إلى قاع الإناء بفعل الجاذبية نظرا" لكبر حجمها وتنفصل عن المذيب كما في المحلول العالق للغرين Silt في الماء.

3-المحاليل المستحلبة Emulsions : وهي المحاليل التي تنتشر فيها مجاميع من جزيئات المادة الذائبة بين أو خلال مادة المذيب لكن هذه المجاميع من جزيئات المذاب ما تلبث إن تتجمع وتنفصل عن وسط المذيب كم في حالة وضع قطرة من الزيت في الماء ورجها حيث تنتشر أولا" ثم بعد قليل تتجمع وتطفو على السطح لانخفاض كثافة الزيت عن الماء.

4-المحاليل الغروية Colloid solutions : وهي المحاليل التي ينتشر فيها جزيئات المادة الذائبة في وسط المادة المذيبة وتبقى جزيئات المادة الذائبة منتشرة ولا تترسب من تلقاء نفسها وان جزيئات المذاب لايمكن رؤيتها بالعين المجردة أو بالمجهر مما يدل على أنها اصغر من وحدات المادة الذائبة في المعلقات والمستحلبات إلا انه يمكن رؤية جزيئات المادة الذائبة في المحاليل الغروية باستعمال المجهر الالكتروني ، كما في إذابة الكبريت في الماء. والمحلول الغروي يتكون من طورين كما في المحلول الحقيقي لكن الاختلاف بينها إن المادة المنتشرة في الغرويات ليست ايونات أو جزيئات بل هي مجموعة من الجزيئات. يطلق على المادة المذيبة الطور المستمر Continuous phase أو وسط الانتشار Dispersion medium وتسمى المادة المنتشرة بالطور غير المستمر Discontinuous أو الطور المنتشر phase Dispersed.

5-المحاليل القياسية Standard solutions : وهي المحاليل التي تكون معلومة الحجم بدقة ومضبوطة التركيز جدا" والتي يعول عليها في التوصل إلى استخراج تراكيز العينات أو النماذج التي يراد معرفة تراكيزها وتستعمل هذه المحاليل في التحليل الكيميائي ألحجمي كونها تبقى ثابتة التراكيز لبضعة أشهر بعد تحضيرها. وتعتمد المواد تامة النقاوة والتي لاتتميأ Hygroscopic وغير المتزهرة Efflorescent في تحضيرها ، كما يراعى أن تكون هذه المواد ذات وزن مكافئ عالي حيث يزداد الوزن اللازم لتحضير المحلول القياسي بزيادة الوزن المكافئ للمادة وعلى ضوء ذلك تقل نسبة الخطأ النسبي في الوزن.

6-المحاليل المنظمة أو (الدارئة) Buffer solutions : وهي المحاليل التي تتكون من حامض ضعيف وملحه أو من قاعدة ضعيفة وملحها ، تستعمل للمحافظة على الدالة الهيدروجينية أو pH الوسط (تركيز ايون الهيدروجين المتأين معبرا" عنها بتعبير لوغاريتمي). وتسمى بالمحاليل الواقية كونها تقاوم التغير في الدالة الهيدروجينية عند إضافة الحوامض والقواعد وتستعمل في التجارب الخاصة بالكيمياء الحيوية عندما يكون من الضروري تثبيت الدالة الهيدروجينية كما في حالة تحضير أوساط تنمية الكائنات الحية الدقيقة والحصول على نواتج الايض الثانوي مثل بروتين الخلية الواحدة Single cell protein الذي يحتاج إلى وسط ذو دالة هيدروجينية ثابتة ، ويجب مراعاة الدقة في اختيار المحاليل الواقية حسب نوعية التجارب وهناك أنواع عدة من المحاليل الواقية لكل منها مدى معين من الدالة الهيدروجينية (pH) وسنكتفي هنا بتحضير محلول واحد ليتعلم الطالب على الكيفية التي يتم بها تحضير مثل هذه المحاليل .

كيفية تحضير المحلول الواقي الجامع (مدى الدالة الهيدروجينية من 2.6– 12.0)

Universal buffer solution with pH 2.6 – 12.0

في دورق حجمي سعة 1 لتر يوضع حجم 750 مللتر ماء مقطر ثم يؤخذ وزن 6.008 غرام من حامض الستريك ($C_6H_8O_7$) تتم إذابتها في ماء الدورق بعدها يؤخذ وزن 3.893 غرام من فوسفات البوتاسيوم الثنائي الهيدروجين (KH_2PO_4) وتتم إذابتها في محتويات الدورق ثم يؤخذ وزن 1.769 غرام من حامض البوريك (H_3BO_3) تضاف الى محتويات الدورق وتذاب جيدا" ثم يؤخذ وزن 5.266 غرام من حامض داي اثيل باربيتورك diethylbarbituric acid ويضاف إلى محتويات الدورق ويذاب جيدا" ثم يكمل الحجم إلى حد علامة 1 لتر بالماء المقطر.

1- في دورق حجمي أخر يتم تحضير محلول هيدروكسيد الصوديوم NaOH بتركيز 0.2 عياري (0.2 N) وذلك من إذابة (8) غرامات من NaOH بالماء المقطر ثم يكمل الحجم إلى 1 لتر من المحلول.

$$\text{وزن المادة (غم)} = \frac{\text{حجم المحلول المطلوب تحضيره (مل) X العيارية المطلوبة X الوزن المكافئ}}{1000} \times \frac{100}{\text{النقاوة}}$$

الوزن المكافئ = الوزن الجزيئي / التكافؤ

2- يتم تثبيت سحاحة على حامل حديدي ثم تملأ بمحلول هيدروكسيد الصوديوم إلى حد العلامة .

3- في بيكر حجم 150 مل يؤخذ حجم 100 مل من المحلول الواقي الذي تم تحضيره ويسحح مع حجم 2 مل من هيدروكسيد الصوديوم من السحاحة بعدها يقاس قيمة الـ pH للمحلول في البيكر باستعمال جهاز الدالة الهيدروجينية pH meter وتسجل القراءة.

4- تعاد العملية كما في تسلل 3 لكن التسحيح هذه المرة مع حجم 15.5 مل من هيدروكسيد الصوديوم ثم يقاس الـ pH وتسجل القراءة.

5- تكرر العملية مع الأحجام 38.9 مل ، 63.7 مل ، 86.0 مل و 99.6 مل من هيدروكسيد الصوديوم.

6- يقوم الطالب بعد تسجيل قراءة الجهاز لقيمة الـ pH مع كل من أحجام محلول هيدروكسيد الصوديوم المستعمل في التسحيح ويرسم منحنى يوضح العلاقة بين حجم القاعدة المستعملة بالعيارية المحددة ودرجة الـ pH للمحلول الواقي. ويمكن مقارنة نتائجه مع الجدول الآتي ومناقشتها، مع ملاحظة إن تجرى التجربة بدرجة حرارة 18 °م (درجة حرارة المختبر).

الدالة الهيدروجينية	مللتر هيدروكسيد الصوديوم	الدالة الهيدروجينية	مللتر هيدروكسيد الصوديوم
2.6	2.0	7.4	55.8
2.8	4.3	7.6	58.6
3.0	6.4	7.8	61.7
3.2	8.3	8.0	63.6
3.4	10.1	8.2	65.6
3.6	11.8	8.4	67.5
3.8	13.7	8.6	69.3
4.0	15.5	8.8	71.0
4.2	17.6	9.0	72.7
4.4	19.9	9.2	74.0
4.6	22.4	9.4	75.9
4.8	24.8	9.6	77.6
5.0	27.1	9.8	79.3
5.2	29.5	10.0	80.8
5.4	31.8	10.2	82.0
5.6	34.2	10.4	82.9
5.8	36.5	10.6	83.9
6.0	38.9	10.8	84.9
6.2	41.2	11.0	86.0

87.7	11.2	43.5	6.4
89.7	11.4	46.0	6.6
92.0	11.6	48.3	6.8
95.0	11.8	50.6	7.0
99.6	12.0	52.9	7.2

Johnson and Lindsay, Analyst; 64, 490 (1939).

لقد قسمت المواد من حيث علاقتها بالماء إلى بلورات Crystalloids وغرويات Colloids.

فالبلورات هي المواد التي تعطي عند إذابتها في الماء محاليل حقيقية ، وسميت بلوريات لأنها تتبلور عند تجفيف محاليها. ومن خواص جزيئاتها أنها تنفذ خلال الأغشية الصناعية.

أما الغرويات فهي المواد التي تعطي عند إذابتها بالماء محاليل غروية وهي مواد لا تتبلور وتشبه الغراء كما إن حبيباتها لا تنفذ من خلال الأغشية الصناعية. وللتعبير عن مقدار وجود ايونات وجزيئات أو حبيبات مادة المذاب في المذيب يستعمل التركيز Concentration. ويعرّف تركيز المحلول بأنه نسبة كمية مادة ما في وحدة الحجم أو وحدة الوزن لمادة أخرى. أن الوحدات المستعملة في التعبير عن الوزن والتركيز لتقدير كتلة مادة ما في المختبر هي وحدات مترية Metric units وهي كيلوغرام Kg ، غرام g و ملغرام mg ، مايكرغرام µg والتي يعبر عنها أيضا كاما ƛ ، نانوغرام ng وبيكوغرام Pg ويعبر عن العلاقة بين هذه الوحدات كما يأتي:

$$1\ g = 10^3\ mg = 10^6\ \mu g \text{ or } 10^6\ ƛ = 10^9\ ng = 10^{12}\ Pg = 10^3\ Kg$$

ومن المناسب التعبير عن علاقات الوزن بين أصناف المواد الكيميائية المختلفة بأعداد صحيحة صغيرة نسبيا ومن هذه الوحدات:

أ- وزن صيغي غرامي Gram Formula weight (صيغة Formula)

ب- وزن جزيئي غرامي Gram Molecular weight

ج- وزن مكافئ غرامي Gram Equivalent weight

أن الصيغة الكيميائية أو (الاختبارية) Empirical Formula تعبر عن ابسط ارتباط بين الذرات المكونة للمادة وتمثل الصيغة الوصفية للمادة صيغتها الكيميائية إذا لم يكن هناك برهان عملي على وجود مضاعفات في الصيغة الوضعية. ومن الضروري إن يدرك الطالب أن الصيغة الكيميائية للمادة هي مجرد تصور ذهني من حيث المبدأ للمادة فمثلا" الماء في حالته السائلة يحوي كميات قليلة جدا" من الصيغ الكيميائية H_3O^+ ، OH^- و H_2O_2 إضافة إلى صيغته الأساسية H_2O حيث أن هذه الصيغة هي السائدة والمعول عليها في الحسابات الكيميائية ، لذلك

فالصيغة الكيميائية ماهي إلا تعبير تقريبي للتركيب الواقعي للمادة الحقيقية وهنا لابد من توضيح ماهو المقصود بالتعابير التي اشرنا إليها:

أ- الوزن الصيغي الغرامي Gram Formula weight

هو مجموع الأوزان الذرية بالغرامات للعدد الكلي للذرات الممثلة بالصيغة الكيميائية المعروفة للمادة

No. Formula weight (Fw) = g of substance / g Fw

ب- الوزن الجزيئي الغرامي Gram Molecular weight

يستعمل بديلا" عن الوزن الصيغي الغرامي عندما يراد التعبير تعبيرا" حقيقيا" عن الأصناف الكيميائية المتداولة ، فمثلا" إذا أردنا التعامل مع كلوريد الصوديوم NaCl فلن يعبر عنه بالوزن الجزيئي الغرامي كـ NaCl لعدم وجود هذه الصيغة في الوسط المائي ((يعني عدم وجود ملح الطعام بشكل جزيئات كلوريد الصوديوم في المحلول المائي)) لكنه يوجد بشكل ايونات لذلك يعبر عنه بالأوزان الجزيئية الغرامية للـ Na^+ (23) غرام و Cl^- (35.45) غراما" وهذا تعبير حقيقي عن كلوريد الصوديوم (NaCl) في محلوله المائي

No. of moles = g of species / gmw

ج- الوزن المكافئ الغرامي Gram Molecular weight

لقد وجد انه من الأفضل استعمال الأوزان المكافئة الغرامية إذ إنها تعبر عن عدد المكافئات الغرامية من المذاب في لتر من المحلول.

No. of equivalent (eq.) = g of substance / eq. wt.

طرق التعبير عن تراكيز المحاليل

تتبع طرق عدة يمكن من خلالها التعبير عن نسبة كمية مادة ما في وحدة حجم أو وحدة وزن مادة أخرى ومن الطرق نذكر ما يأتي:

1-التعبير بالغرامات لكل وحدة حجم Grams per volume unit

يمكن التعبير بهذه الطريقة عن التركيز بالغرامات (أو الملغرامات) من المذاب في لتر (أو مللتر) من المحلول. فمثلا" يكون التعبير عن تركيز محلول كاربونات الصوديوم بـ 10غرامات في اللتر 10 g /L . حيث يتم إذابة 10 غرامات من ملح كاربونات الصوديوم في كمية من الماء المقطر وبعد تمام الذوبان يكمل الحجم في دورق حجمي إلى 1 لتر بالماء المقطر.

2- التعبير بالنسبة المئوية Percentage وتتضمن الصيغ الآتية:

أ- نسبة مئوية وزن / وزن weight / weight percent

وهي المحاليل التي يتم تحضيرها باستعمال وحدات الوزن لمادة المذيب ومادة المذاب، فمثلا" يؤخذ وزن (10) غرامات و(90) غراما" من مادة المذيب وهنا يجب أن يكون الوزن النهائي للمحلول (المذاب والمذيب) 100غرام. وتستخرج النسبة المئوية وفق المعادلة :

$$\text{Weight percent} = \frac{\text{Weight of solute (g)}}{\text{Volume of solution (ml)}} \times 100$$

ب- نسبة مئوية وزن / حجم Weight / Volume percent

في هذه الحالة يتم تحضير المحاليل بتراكيز يعبر عنها من خلال إذابة وزن معين من مادة المذاب مثلا" (1) غرام ويكمل الحجم إلى (100) مللتر من المحلول بمادة المذيب. وتحسب النسبة المئوية وفق المعادلة الآتية:

$$\text{Weight / Volume percent} = \frac{\text{Weight of solute (g)}}{\text{Volume of solute (ml)}} \times 100$$

ج- نسبة مئوية حجم / حجم Volume / Volume percent

يستعمل في بعض الأحيان حجم المذاب بدلا" من وزنه كما في إذابة (5) مللتر من الكحول في 100 مللتر من المحلول المائي ، وتحسب النسبة المئوية وفق المعادلة الآتية:

$$\text{Volume percent} = \frac{\text{Volume of solute (ml)}}{\text{Volume of solute (ml)}} \times 100$$

3- التعبير بالتركيز الصيغي Formula concentration (F)

في هذا النوع يتم التعبير عن عدد الأوزان الصيغية من المذاب في لتر من المحلول وتتم الحسابات فق الأتي:

$$\text{Formality (F)} = \frac{\text{Weight of solute per liter}}{\text{Gram Formula weight}}$$

$$\text{No. of milliformula wts} = \frac{\text{ml of solution}}{\text{ml of solution}} = \frac{\text{(grams of solute / g fw)} \times 100}{\text{ml of solution}}$$

$$= \frac{\text{Grams of solute} \times 1000}{\text{ml of solution} \times \text{g fw}}$$

$$\text{التركيز الصيغي} = \frac{\text{وزن المذاب في لتر من المحلول}}{\text{الوزن الصيغي الغرامي للمذاب}}$$

4- التعبير بالتركيز المولاري (الجزيئي) Molar concentration (M)

المولارية Molarity ويعرف التركيز المولاري بأنه عدد الأوزان الجزيئية الغرامية من المذاب في لتر من المحلول وكما في المعادلة الآتية:

$$M = \frac{\text{No. of moles}}{\text{Liter of solution}} = \frac{\text{grams of solute / gm w}}{\text{Liter of solution}}$$

$$M = \frac{\text{No. of millimoles}}{\text{mils of solution}} = \frac{\text{(grams of solute / gm w)} \times 1000}{\text{ml of solution}}$$

$$M = \frac{\text{Grams of solute} \times 1000}{\text{ml of solution} \times \text{gmw}}$$

$$\text{التركيز المولاري} = \frac{\text{وزن المذاب في لتر من المحلول}}{\text{الوزن الجزيئي الغرامي للمذاب}}$$

وهنا من الضروري التمييز بين التركيز الصيغي والتركيز المولاري خاصة بالنسبة للاليكتروليتات الضعيفة فقد يكونان متماثلين في بعض الحالات ويختلفان اختلافا واضحا" في حالات أخرى ، فمحلول حامض الأوكزاليك الذي يحوي وزنا صيغيا" غراميا" واحدا" (90.04غراما" من $H_2C_2O_4$) في لتر من المحلول يكون تركيزه الصيغي واحد (1F) بالنسبة لمادة حامض الأوكزاليك لكن الحامض يتأين بنسبة 22% تقريبا" لذا فأن تركيز الحامض غير المتأين يساوي حوالي 0.78 مولاريا".

أما في حالة محلول ملح الطعام الذي يحوي وزنا" غراميا" قدره واحد من NaCl (58.44غراما") في لتر من المحلول فتركيزه الصيغي واحد (1F) بالنسبة للـ NaCl والتركيز المولاري لهذا الملح أيضا" يساوي واحد مولاري (1M) بالنسبة للـ Na^+ ومولاريا" واحدا" (1M) بالنسبة للـ Cl^- . أما التركيز المولاري بالنسبة للـ NaCl فيساوي صفر لان هذه المادة اليكتروليت قوي و يتأين بصورة تامة في الحالة الصلبة أو عند ذوبانه في المحلول المائي. لذلك قبل تعيين التركيز المولاري لمحلول مادة ما من الضروري إن تعطى مواصفات كمية تتعلق بتركيب المادة في المحلول.

5- التعبير بالتركيز ألعياري Normal concentration (N) (عياريه Normality)

يكون التعبير في هذه الحالة عن عدد الأوزان المكافئة الغرامية من المذاب في لتر من المحلول (عدد مكافئات المذاب في لتر من المحلول). ويتم حساب العيارية وفق الآتي:

$$N = \frac{\text{No. of equivalents}}{\text{Liter of solution}} = \frac{\text{grams of solute / Eq. wt.}}{\text{liter of solution}}$$

$$N = \frac{\text{No. of milliequivalents}}{\text{mls of solution}} = \frac{\text{(grams of solute / Eq.wt.) X1000}}{\text{ml of solution}}$$

$$N = \frac{\text{Grams of solute X 1000}}{\text{ml of solution X Eq. wt.}}$$

$$\text{التركيز ألعياري (N)} = \frac{\text{وزن المذاب في لتر من المحلول}}{\text{الوزن المكافئ الغرامي للمذاب}}$$

أن إيجاد التركيز ألعياري يتطلب معرفة الوزن المكافئ للمادة المذابة. ولابد من معرفة أن الاليكتروليتات تكون أما حامض Acid أو قاعدة Base أو ملح Salt وأما إن تكون قوية (تامة التأين تقريبا") مثل حامض HCl وقاعدة هيدروكسيد البوتاسيوم KOH وملح نترات الصوديوم $NaNO_3$ ، أو تكون ضعيفة (جزئية أو قليلة التأين) مثل حامض الخليك CH_3COOH ومحلول الامونيا ($NH_3^+H_2O$) وكلوريد الزئبق $HgCl_2$ فالمحلول ألعياري يحتوي على الوزن المكافئ بالغرام Gram equivalent weight في لتر واحد من المحلول ، وان الوزن المكافئ الغرامي لأي عنصر يمثل عدد الغرامات من ذلك العنصر التي يجب إن تتحد مع أو تحل محل غرام واحد من الهيدروجين . فالوزن المكافئ الغرامي للحامض أو القاعدة هو الكمية التي تعادل الوزن الذري لايون الهيدروجين بمعنى أن واحد مولاري (1M) من حامض HCl يساوي واحد عياري (1N) لهذا الحامض بينما في حامض الكبريتيك H_2SO_4 فان واحد مولاري (1M) من الحامض تعادل 2 عياري (2N) من هذا الحامض لان حامض الكبريتيك له القابلية على تحرير 2H . كذلك فان واحد مولاري (1M) من هيدروكسيد الصوديوم NaOH يعادل واحد عياري (1N) من هذه القاعدة لأنها
تحرر وزن جزيئي واحد من ايون الهيدروكسيل OH^- في المحلول والذي يتعادل مع وزن ذري واحد من الهيدروجين ، بينما واحد مولاري (1M) من هيدروكسيد الكالسيوم $Ca(OH)_2$ فانه يعادل 2 عياري (2N) منها لأنها تحرر وزنين جزيئيين من الهيدروكسيل تتعادل مع وزنين ذريين من الهيدروجين ولحساب الكميات التي يجب وزنها عند تحضير المحاليل العيارية يتبع القانون العام والذي يفترض أن نقاوة المادة 100%.

$$\text{وزن المادة (غم)} = \frac{\text{حجم المحلول المطلوب تحضيره (مل) X العيارية المطلوبة للمحلول X الوزن المكافئ للمادة}}{1000}$$

أما في الحالة التي تكون فيها درجة النقاوة للمادة اقل من 100% مثلا" 85% فيكون القانون

$$\text{وزن المادة (غم)} = \frac{\text{حجم المحلول المطلوب تحضيره (مل) X العيارية المطلوبة للمحلول X الوزن المكافئ}}{1000} \times \frac{100}{85}$$

أما بالنسبة للأحماض فيدخل الوزن النوعي فمثلا" حامض الكبريتيك درجة النقاوة 96% ووزنه النوعي 1.84 .

$$\text{أن حجم الحامض المركز (مل) اللازم لتحضير المحلول} = \frac{\text{حجم المحلول المطلوب تحضيره (مل)} \times \text{العيارية المطلوبة} \times \text{الوزن المكافئ}}{1000} \times \frac{100}{\text{درجة النقاوة} \times \text{الوزن لنوعي}}$$

$$\text{الوزن المكافئ} = \frac{\text{الوزن الجزيئي}}{\text{التكافؤ}} \quad ، \quad \text{العيارية} = \text{المولارية} \times \text{التكافؤ}$$

6- التعبير بأجزاء المذاب في مليون جزء من المحلول Part per million (ppm)

يستعمل هذا النوع من التعبير عن التركيز في المحاليل المخففة جدا" Very Dilute Solutions أو في حالات التحليل التي تكون فيها كمية المادة المذابة المراد استخراجها قليلة جدا" ويسمى التحليل بالحساس أو الدقيق Trace Analysis ويمكن تقدير أجزاء المذاب في مليون جزء من المحلول كما يأتي:

$$ppm = \frac{\text{Weight of solute}}{\text{Liter of solution}} \times 10^6$$

فإذا كان الماء مذيبا" وكمية المادة المذابة قليلة جدا" إلى الحالة التي يمنك اعتبار كثافة المحلول مساوية لكثافة الماء (غرام واحد لكل مللتر واحد) 1g /1ml فيكون القانون

$$ppm = \frac{\text{mg of solute}}{\text{Liter of solution}} \times 10^6$$

كما يمكن استعمال مصطلح أجزاء المذاب في بليون من المحلول (ppb) Part per billion في المحاليل الأكثر تخفيفا".

$$ppb = \frac{\text{mg of solute}}{\text{Liter of solution}} \times 10^9$$

7- التعبير بالتأتير Titre

يعرف تأتير المحلول Titre of the solution بأنه وزن المادة بالملغرامات الذي يكافئ كيميائيا" مللترا" واحدا" من ذلك المحلول فمحلول نترات الفضة الذي له تأتير يساوي ملغراما" واحدا" (1mg) من الكلوريد (Cl^-) يحوي كمية كافية من نترات الفضة في كل مللتر لتتفاعل بصورة تامة مع ذلك الوزن من الكلوريد. ويمكن إن يعبر عن التأتير بالملغرامات أو الغرامات من كلوريد البوتاسيوم أو كلوريد الباريوم أو يوديد الصوديوم أو أية مادة تتفاعل مع نترات الفضة.

التجربة العملية

اسم التجربة : تحضير أنواع المحاليل المختلفة والكشف عن بعض صفاتها.

يتم تقسيم الطلاب إلى مجاميع عدد طلابها من 2 – 3 طلاب للمجموعة.

المواد المطلوبة للمجموعة :

1- بيكر حجم 250 مللتر عدد 4 . 2- أطباق بتري عدد 4 .

3- مصدر ضوء يؤمن الحصول على الضوء بشكل حزمة ضوئية. 4- مصدر تسخين (هيتر) أو حمام مائي.

5- مجهر ضوئي ذو قوة تكبير عالية. 6- ماء مقطر.

7- سكر أو ملح ، نشأ أو اكر Agar أو مسحوق الكبريت ، غرين ، زيت الزيتون. 8- 2 دورق حجمي سعة 1 لتر.

9- المواد الكيميائية المطلوبة لتحضير المحلول الواقي سابق الذكر. 10- هيدروكسيد الصوديوم لتحضير محلول 0.2ع

طريقة العمل:

1- يتم تحضير 4 أنواع من المحاليل هي محلول حقيقي، محلول عالق، محلول مستحلب ومحلول غروي.

2- يتم تسجيل الملاحظات عن المحاليل بالعين المجردة.

3- توجه حزمة الضوء نحو البيكرات المحتوية على المحاليل ويلاحظ درجة نفاذ الضوء .

4- يؤخذ حجم 10 مل من محتوى البيكرات يوضع في أطباق بتري ويفحص تحت المجهر وتسجل الملاحظات لرؤية الجزيئات.

5- تقوم كل مجموعة بتحضير المحلول الواقي وتتم عملية التسحيح وتسجل النتائج ، يكتب الطالب تقريره عن التجربة ويناقش النتائج ويقدمه في بداية محاضرة الأسبوع التالي.

الفصل الثاني

الغرويات Colloids

قد يكون من الصعوبة إيجاد تعريف حقيقي للغرويات إلا أن المقصود بها هي المواد التي تكون جزيئاتها اكبر حجما" من الجزيئات في المحاليل الاعتيادية حيث يتراوح متوسط قياسها من 1 – 100 مايكرومول (µm) وهي اصغر من حجم جزيئات المواد العالقة والمستحلبة ، وعلى الرغم من ذلك فلا يوجد حد فاصل يوضح الحد بين المحاليل الغروية والمحاليل الحقيقية من جهة وبين الأنظمة الغروية والمحاليل المعلقة من جهة ثانية فجزيئات المحاليل العالقة والمستحلبات يمكن رؤيتها تحت المجهر الضوئي بينما جزيئات المحلول الغروي يمكن رؤيتها فقط تحت المجهر الالكتروني أو المجهر الفائق . يكون النظام الغروي بأحد حالتين ذائبة أو هلامية ففي الحالة الذائبة يكون فيها أعلى درجات السيولة ويظهر النظام أشبه بالمحلول إلا أن حالة الهلام يكون قد تصلب أو أصبح مطاطيا" وقد يتغير النظام بين حالتي الذائب والهلام حسب محتواه من الماء ودرجة الحرارة . فالنظام الغروي الذي جزيئاته ذات ألفة للماء يعرف بـ Lyophillic فالغرويات التي لها ألفة للماء تعرف بالمحبة للماء Hydrophilic colloids كالنشأ Starch ، السليلوز Cellulose ، الاكر Agar أما الجزيئات التي ليس لها ألفة للامتزاج فتعرف الغرويات بالـ lyophobic وتعرف بالغرويات الكارهة للماء Hydrophobic colloids مثل المعادن Metals وكبريتاتها Sulphides والهيدروكسيدات Hydroxides.

خصائص الغرويات

تتصف الغرويات بعدد من الخصائص التي تعطي النظام الغروي الكيفية التي يصلح إن يتفادى الآثار السلبية التي يمكن أن تغير من أو تؤثر في نوعية جزيئاته ومن هذه الخصائص :

1- قابلية الترشح Filterability: يمكن ترشيح الغرويات باستعمال ورق الترشيح . كما يمكن الفصل بين مزيج الغرويات والبلوريات بعملية الديلزة Dialysis فالبلوريات الذائبة في الماء يمكنها أن تمر من خلال ورق الترشيح مع الراشح بينما الغرويات فلا تنفذ من خلال ورق الترشيح وهذه العملية تسمى الديلزة.

2- زيادة مساحتها السطحية وقابلية الادمصاص Increased surface area and adsorption : ينشأ الادمصاص من تراكيز داخلية للجزيئات المتفاعلة فزيادة تركيز عدد الجزيئات Interfacilly سوف يسهل زيادة عدد التفاعلات الكيميائية والكيموحيوية ، فالغرويات تؤمن زيادة المساحة السطحية للادمصاص للمواد المتفاعلة وهذه حقيقة معروفة بان المساحة السطحية الكلية للمواد الصلبة المعروضة تزداد عدة مرات من خلال تجزئتها إلى جزيئات دقيقة.

3- الحركة البراونية Brownian movement: لاحظ عالم النبات Robret Brown في عام 1828 حركة متذبذبة سريعة في حبيبات اللقاح الموضوعة في قطرة ماء حيث لاحظها تحت المجهر ، وقد تم ملاحظة هذه الحركة في جزيئات الغرويات لذلك سميت بالحركة البراونية وهي حركة تنشأ من تصادم جزيئات الغرويات المذيب وغالبا" الجزيئات الصغيرة يحصل التصادم بينها من جهة واحدة فتكون حركة غير مستقيمة (بشكل متعرج Zigzag) بينما في حالة الجزيئات الكبيرة فيكون التصادم من جميع الجوانب وهي جزيئات قليلة أو عديمة الحركة.

4- ظاهرة تندال Tyndall phenomenon : عندما يوضع ماء مقطر أو محلول حقيقي في قدح زجاجي فان إمرار حزمة ضوئية خلاله سوف يخترق محتوى القدح ويظهر من الطرف الثاني دون حصول تغير غير إن تغير محتوى القدح بمحلول غروي فان جزء من الحزمة الضوئية ستنتشر خلال النظام الغروي مما يجعله أكثر وضوحا" وهذه الظاهرة تعرف بظاهرة تندال حيث يتشتت الضوء (جزء من الضوء) بسبب اصطدامه بجزيئات الغرويات.

5- اللزوجة Viscosity : تظهر المحاليل الغروية خاصية اللزوجة وهي مقاومة السائل للانسكاب وتكون هذه الخاصية متباينة بين المحاليل الغروية التي غروياتها كارهة للماء حيث تكون لزوجتها مشابهة للزوجة الماء والمحاليل الغروية التي غروياتها محبة للماء والتي تكون لزوجتها أعظم مما عليه في وسط الانتشار.

6- خصائص الكهربائية Electrical properties: إن حركة الايونات موجبة الشحنة تكون باتجاه القطب السالب والمعروف بالهجرة الكهربائية Electrophoresis أو Cataphoresis. أن المحلول الغروي متعادل كهربائيا" وذلك لان كل شحنة محمولة على دقيقة غروية miscelle تكون متعادلة بشحنة مضادة محمولة على الايونات في وسط الانتشار. لكن بالنسبة لجزيئات الغرويات المنتشرة في المحاليل الكارهة للماء فأنها تكون مشحونة كهربائيا".

7- الترسيب Flocculation : بالنسبة للمحاليل الغروية التي غروياتها كارهة للماء فان الشحنات التي تحملها الدقائق الغروية miscelle تبقيها مستقرة فعندما تتناقص الشحنات إلى الحد الذي لا يبقى فيه اختلاف في الكهربائية تتقابل الطبقتين لتتكتل كجزيئات فردية في القدح وتكون في أسفل النظام وهذا ما يعرف بالترسيب.

بروتوبلازم الخلية نظام غروي متعدد الأطوار

الخلية هي الوحدة الأساسية لبناء الكائن الحي كما أنها وحدة النشاط الحيوي فيه والمادة البروتوبلازمية للخلية هي الموقع الذي تتم فيه جميع الفعاليات الايضية للخلية وهذا البروتوبلازم مركب أساسا" من مواد بهيئة غروية ويظهر خصائص كلا حالتي المعلق Suspension والمستحلب Emulsion وتظهر القوة العظمى للغرويات المحبة للماء بحالة السيولة فالطور

المستمر يكون على شكل محلول مائي للأملاح والطور غير المستمر يكون على هيئة مستحلب للمركبات العضوية ، الدهون ، البروتينات. أن جزيئات الغرويات المنتشرة في نظام السايتوبلازم تكون في الغالب متحللة مائيا" ووفقا" للتغير في المحتوى المائي ونسبة المركبات العضوية يتغير حالة البروتوبلازم من الحالة السائلة إلى حالة الهلامية وبالعكس على الرغم من أن الحالة الدائمة هي حالة الهلام ولهذه الحالة تنسب الخواص الطبيعية والكيمياوية للبروتوبلازم علما" أن الكثير من العمليات الفسلجية التي تتم في الخلية تنجز بوساطة عوامل مساعدة عضوية تعرف بالأنزيمات والتي هي تتواجد بحالة غروية من هنا يلزم التعرف وفهم صفات هذه الحالة كمدخل لدراسة فسلجة الخلية النباتية والعمليات الايضية الأخرى.

التجربة العملية : خصائص الحالة الغروية .

تجربة دراسة خصائص الحالة الغروية للمحاليل و بروتوبلازم الخلية النباتية.

المواد المطلوبة :

1- بيكر زجاجي حجم 250 مللتر عدد 3 لكل مجموعة . 2- أقطاب كهربائية عدد 2 .

3- مصدر ضوئي يمكن إن يوفر حزمه ضوئية ضيقة . 4- أنبوبة زجاجية على شكل حرف U .

5- سدادة فلينية مثقوبة لإمرار القطب الكهربائي عدد 2 . 6- سكروز ، سليلوز ، نشأ .

7- أوراق نبات للحصول على العصارة النباتية أو سيقان غضة . 8- خلاط كهربائي .

9- أوراق ترشيح . 10- قمع زجاجي .

11- حامل حديدي . 12- مجهر ضوئي .

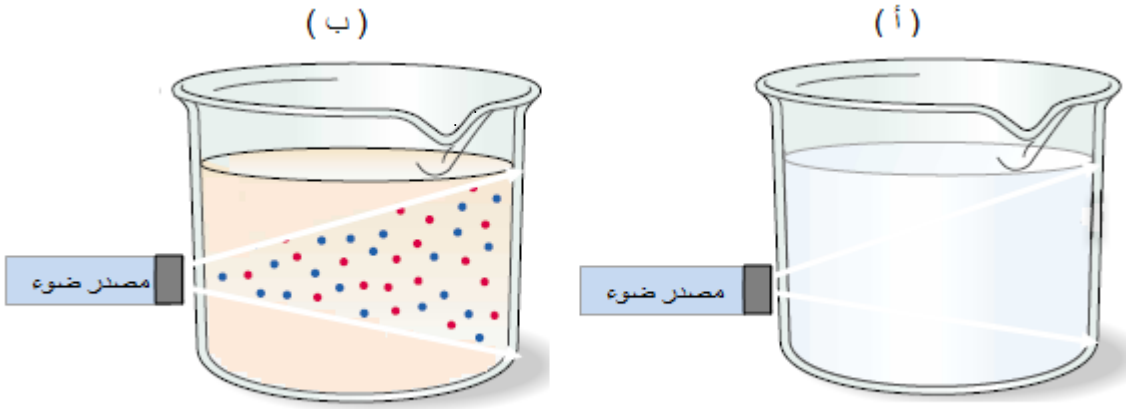
طريقة العمل:

1- حظر نوعين من المحاليل هما

أ- محلول حقيقي – خذ بيكر حجم 250 سم^3 وضع فيه وزن 5 غرام من السكروز ثم اضف لها 100سم^3 ماء مقطر وحرك حتى تمام الذوبان .

ب- محلول غروي – خذ بيكر حجم 500 سم^3 وخذ وزن 5 غرام من السليلوز او النشأ حسب المتوفر.

ج- وجه حزمة ضوء من مصدر ضوئي نحو محتويات البيكرين كما في الشكل (3) سجل ملاحظاتك حول تشتت الضوء من أي من المحلولين , وفسر نتائجك.



شكل (3 ، أ) محلول حقيقي لا يشتت الضوء و (3 ، ب) محلول غروي يشتت الضوء حسب ظاهرة

2- قسم المحلول الغروي الذي قمت بتحضيره الى ثلاث اقسام متساوية كل قسم منها 100 سم^3 وتعامل معها وفق الاتي :

* **القسم الاول** : حجم 100 سم^3 من المحلول الغروي

أ- حضر 2 بيكر حجم كل منهما 250 سم^3 ضع في كل منهما حجم 150 سم^3 ماء مقطر .

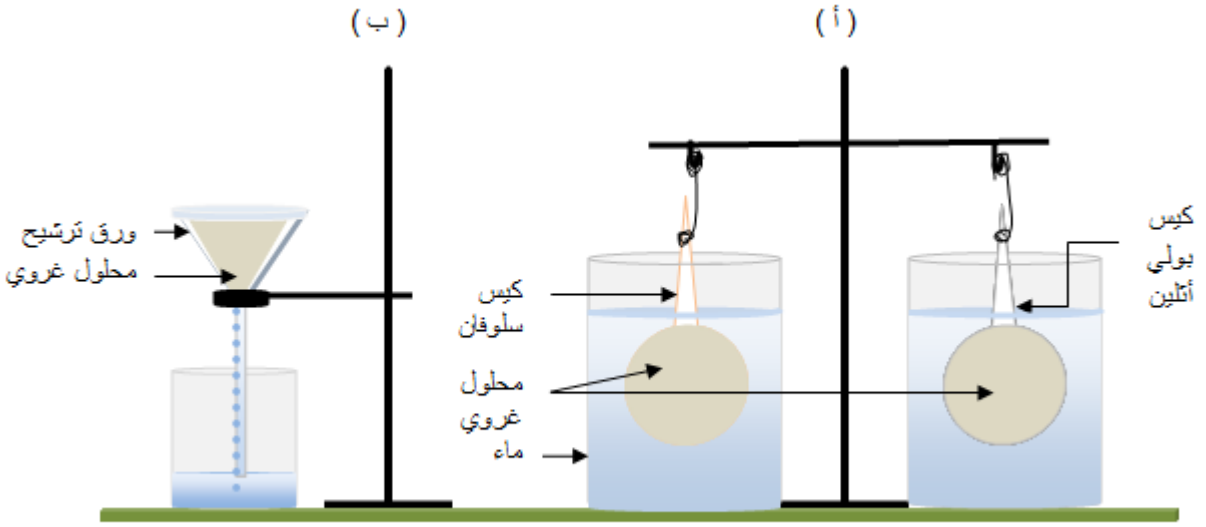
ب - حضر كيس صغير من السلوفان حجمه بحدود 100 سم^3 وضع فيه 50 سم^3 من محلول غروي أغلق فوهة الكيس وأربطه الى حامل كما في الشكل (4 أ) وغطسه في ماء البيكر الاول .

ج - حضر كيس صغير من البولي اثيلين حجمه بحدود 100 سم^3 وضع فيه 50 سم^3 من المحلول الغروي أغلق فوهة الكيس وأربطه كما في الشكل (4 أ) وغطسه في ماء البيكر الثاني .

د- اترك التجربة على هذا الحال لمدة ساعة .

هـ - حضر حامل حديدي مع ماسكة وبيكر وقمع زجاجي وورقة ترشيح ، ثم قم بترشيح قسم من المحلول الغروي كما في الشكل (4 ب) .

و- أستعمل جهاز المكسر الضوئي Handrefractometer لتقدير المواد الصلبة الذائبة في كل من المحلول الغروي و الماء الموجود في الدوارق وثبت القيم التي تحصل عليها في سجلك



شكل (4 أ و ب) يبين كيفية تنفيذ التسلسل 2 من تجربة دراسة الحالة الغروية للمحاليل

***القسم الثاني** : حجم 100 سم^3 من المحلول الغروي .

أ- حضر بيكر , قمع من ورق ترشيح وثبتها كما في الشكل (4 **ب**) .

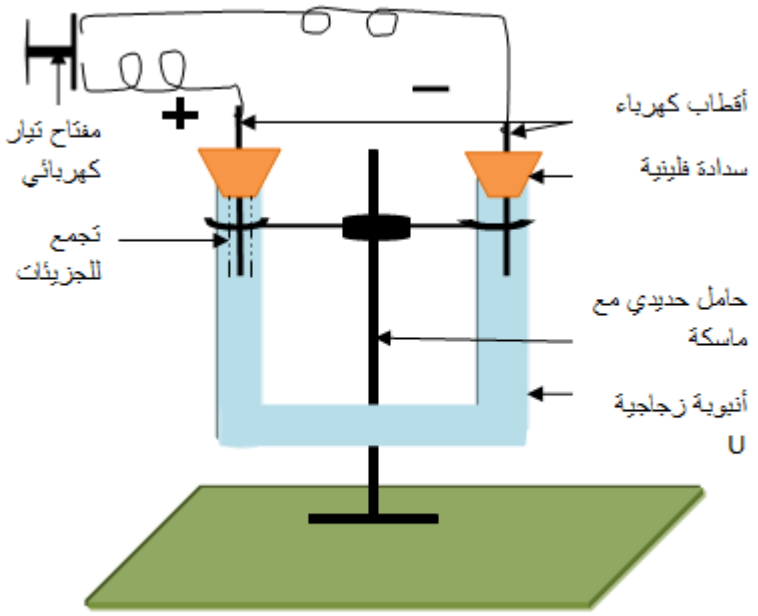
ب- رشح القسم الثاني من المحلول الغروي واحتفظ بالراشح .

ج- استعمل جهاز المكسر الضوئي لتقدير المواد الصلبة الذائبة من الراشح الذي جمعته قارن بين قيم المواد الصلبة الذائبة التي قراتها للمحلول الغروي المحضر وللماء المقطر في البيكرين وللمحلول الغروي بعد الترشيح . فسر اختلاف النتائج عند كتابة التقرير.

***القسم الثالث**

أ- انقل القسم الثالث من المحلول الغروي (حجم 100سم^3) الى اسطوانة زجاجية بشكل حر U تم تثبيتها الى حامل حديدي وقم بوضوع قطب كهربائي في كل طرف بحيث ينغمس القطب في المحلول ومرر السلك المرتبط بالقطب عبر السدادة الفلينة ثم اوصله بالتيار الكهربائي . وبعد ايصال الطاقة الكهربائية راقب تجمع الجزيئات حول القطب الموجب كما في الشكل (5) . اوقف التجربة ونظف الزجاجة والاقطاب بالماء المقطر .

ب- استعمل المحلول الحقيقي الذي قمت بتحضيره في الزجاجة التي على شكل U بدلا من المحلول الغروي وأكمل التجربة كما في أ . وسجل ملاحظاتك وفسر النتائج عند كتابة التقرير.



شكل (5) أثبات ظاهرة تجمع الجزيئات الغروية حول القطب الموجب

3-

أ- خذ وزن 250 غم من حامل الاوراق الطرية والسيقان الغضة لنبات السلق beetrave وخاصة المحتوية على كمية كبيرة من الماء ثم قطعها الى قطع صغيرة وضعها في جهاز خلاط كهربائي blander واهرسها لمدة 5 دقائق .

ب- لغرض فصل العصاررة النباتية عن المخلفات الصلبة حضر بيكر وقطعة نظيفة من قماش الململ وانقل اليها المادة التي هرستها في الخلاط.

ج- وجه حزمة الضوء من مصدر الضوء الى العصارة النباتية التي تم فصلها . ثم قدر المواد الصلبة الذائبة فيها بأستعمال جهاز المكسر الضوئي وسجل ملاحظاتك .

د- قم بترشيح العصارة النباتية من خلال ورقة ترشيح واجمع الراشح في بيكر واعد امرار حزمة الضوء من خلاله ثم قدر المواد الصلبة الذائبة بجهاز المكسر الضوئي وسجل الملاحظات .

4- حضر 3 اطباق بتري وضع في الطبق الاول حجم 10سم^3 من المحلول الحقيقي وضع نفس الحجم من المحلول الغروي في الطبق الثاني وضع ايضا نفس الحجم من العصارة النباتية في الطبق الثالث ثم قم بفحصها الواحد تلو الاخر تحت المجهر ولاحظ الحركة البروانية للجزيئات الغروية وسجل ملاحظاتك عند وجودها في اي الاطباق .

5- يقدم الطالب تقرير عن التجربة ومناقشة النتائج في بداية محاضرة الاسبوع التالي .

ألباب الثالث

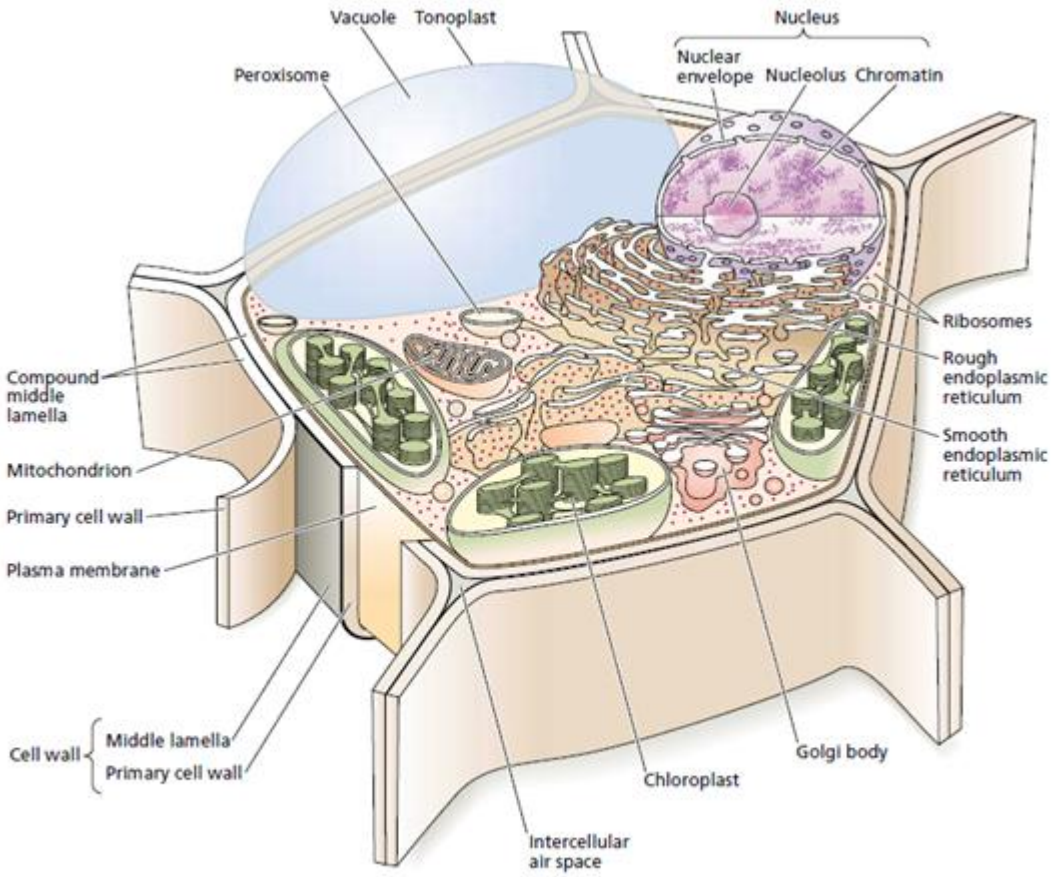
الفصل الأول

الخلية النباتية Plant cell

تمثل الخلية النباتية وحدة البناء والوظيفة في أجسام النباتات حيث تتم معظم التفاعلات الكيميائية المعقدة الخاصة بحياة النبات فيها وتوجد أنواع متعددة من الخلايا في أجسام النباتات الراقية وتختلف هذه في التركيب والوظيفة والشكل والحجم والترتيب وتعقد الجدار.فمن ناحية الشكل قد تكون الخلايا النباتية مكعبة Cubical أو منشوريه Prismatic أو أنبوبية Tubular أو اسطوانية Cylindrical أو كروية Spherical أو بيضوية Oval أو متعددة السطوح Polyhedral ، كما تختلف في أحجامها حسب اختلاف النباتات وعلى العموم فأكثر الخلايا النباتية يقع حجمها بين 10 – 100 مايكرون من جهة أخرى تختلف هذه الخلايا في الوظيفة والتركيب بالإضافة إلى الشكل والحجم والترتيب وتعقد الجدار. وتتكون الخلية النباتية (شكل 6) من جزأين متميزين هما:

1- **جدار الخلية Cell wall**

2- **البروتوبلاست The protoplast** والذي يضم السايتوبلازم والبلاستيدات والمايتوكوندريا والنواة إضافة إلى المكونات غير الحية والتي بضمنها المواد الايضية للخلية كالمواد الكاربوهيدراتية (النشأ ، السليلوز) والبروتينات واللبيدات وغيرها إضافة للفجوات.



شكل (6) أجزاء ومكونات الخلية النباتية ، عن (2006) Taiz and Zeiger

أولا: كيفية تحضير المحاليل الكيميائية والصبغات المستعملة في التجارب:

1- محلول Chloro-Zinc-Iodine

أ- أذب 110 غرام من الزنك Zn في 300سم^3 من حامض الهيدروكلوريك المركز Conc.HCl ثم بخر إلى نصف الحجم وأثناء التبخير أضف قليل من الزنك.

ب- أذب 10 غم من يوديد البوتاسيوم KI في اقل كمية من الماء المقطر وأضف إليه 0.15 غرام من اليود I.

ج- امزج المحلولين أ و ب وإذا حصلت عكرة فيرشح باستعمال الصوف الزجاجي ثم يحفظ في قنينة زجاجية معتمة كي لا يتأثر بالضوء.

2- محلول اليود في يوديد البوتاسيوم KI I (يمكن تحضيره بطريقتين)

أ- أذب 12.7 غرام من اليود في 30 سم^3 من الماء المقطر المذاب فيه 20 غرام من يوديد البوتاسيوم KI ثم أكمل الحجم إلى 1 لتر بالماء المقطر. وتستعمل هذه الصبغة لتصبيغ المواد النشوية باللون الأزرق ، وتصبيغ بروتوبلازم الخلية باللون الأصفر.

ب- محلول I KI (1%) أذب 1 غرام من اليود I_2 في حجم 50 سم^3 من الماء المقطر ثم أضف له 1 غرام من KI واخلط جيدا" حتى تمام الذوبان ثم أكمل الحجم إلى 100 سم^3 بالماء المقطر وأحفظه في قنينة معتمة.

3- محلول بندكت Benedict

حضر الأوزان الآتية من المواد المبينة إزاء كل منها :

أ- 17.3غرام من $CuSO_4.5H_2O$ كبريتات النحاس المائية.

ب- 17.3غرام من Sodium citrate سترات الصوديوم.

ج- 100غرام من Anhydrous sodium carbonate كاربونات الصوديوم المائية.

د- 100سم^3 ماء مقطر.

طريقة العمل:

1- أذب سترات الصوديوم وكاربونات الصوديوم اللامائية في 600 سم^3 ماء مقطر مع التسخين الهادئ وإذا لزم الأمر يتم الترشيح.

2- أذب كبريتات النحاس في 150 سم^3 من ماء مقطر.

3- إمزج المحلولين مع التحريك المستمر وأكمل الحجم إلى لتر واحد.

4- محلول صبغة سودان 3 Sudan III

خذ وزن 0.1 غرام من صبغة Sudan III وأذبها في 50 سم^3 من الكحول الاثيلي Ethyl alcohol (95%) وقم بالتحريك ثم أضف 5 سم^3 من الكلسيرين glycerol إلى المزيج.

5- صبغة الأخضر السريع Fast green

تستعمل هذه الصبغة في تصبيغ السايتوبلازم والمواد السليلوزية وخيوط المغزل خلال الانقسام الخلوي حيث تظهر الأجزاء النباتية واضحة جدا" ويتم تحضيرها كالآتي:

خذ وزن 1 غرام أو 0.5 غرام من الصبغة أذبها في 100 سم^3 من الكحول الاثيلي المطلق Absolute ethyl alcohol .

6- صبغة السفرانين Safranin

من الصبغات المهمة جدا" والشائعة الاستعمال في تصبيغ الأنسجة النباتية حيث تعمل على تصبيغ جميع التراكيب الملكننة والمكيتنة والمسوبرة والكرموسومات والنواة والسنتروسوم ، ويتم تحضيرها كالآتي: خذ وزن 1 غرام من الصبغة أذبها في 100سم^3 من الكحول الاثيلي المطلق Absolute ethyl alcohol واتركها لمدة 24 – 48 ساعة قبل الاستعمال .

7- صبغة الايوسين Eosin

لتحضير محلول ايوسين (1%) يؤخذ وزن 1 غرام من صبغة إل Eosin ويذاب في 100 سم^3 ماء مقطر ثم يحفظ في قنينة زجاجية معتمة.

8- محلول Phloroglucin Solution

أذب 1 غرام من ال Phloroglucin في 100سم^3 من الكحول الاثيلي تركيز 95 % .

9- محلول صبغة المثيل الازرق Methylen Blue Stain Solution 0.02 %

أذب 20 ملغرام من أزرق مثيلي في حجم 100 سم^3 من الماء المقطر .

10- محلول كبرتات الانيلين Aniline Sulfate

11- محلول كبريتات النحاس 5% : خذ وزن 5 غرام من كبريتات النحاس $CuSO_4$ وأذبها في 100 سم^3 ماء مقطر .

12- محلول هيدروكسيد الصوديوم 50% : خذ حجم 50غرام من هيدروكسيد الصوديوم NaoH وأذبها حجم 100 سم^3 في ماء مقطر.

ثانيا: التجارب العملية: التعرف على الانسجة النباتية وشكل الخلية النباتية واجزائها

1- تجربة تحضير شريحة لنسيج البشرة . Slid preparation to epidermic tissue

المواد المطلوبة :

1- ساق قرصية للبصل Onion (*Allium cepa*) . 2- مجهر ضوئي .

3- شريحة زجاجية Slid وغطاء شريحة Slid cover . 4- عدة تشريح .

5- محلول صبغة المثيل الازرق methyl blue مع قطارة .

طريقة العمل :

1- لتحضير نموذج فحص خلايا البشرة خذ نسيج من طبقة البشرة الغشائية الرقيقة جدا المحيطة بالاوراق الحرشفية للبصلة ومن السطح المقعر للاوراق اللحمية الطرية للبصلة .

2- ضع قطرة ماء مقطر على الشريحة الزجاجية وخذ جزء من نسيج البشرة وضعه داخل قطرة الماء .

3- ضع غطاء الشريحة بشكل مائل لتلافي تجمع فقاعات هواء تحت الغطاء .

4- ضع غطاء الشريحة على مسرح المجهر وأفحص النموذج تحت القوة الصغرى ثم انقل الى عدسة القوة الكبرى .

5- قم بتصبيغ النموذج بأستعمال قطرة من محلول صبغة المثيل الازرق التي ستصبغ الجدران الخلوية وتظهرها بلون غامق .

6- أعد فحص النموذج وأرسم ماتشاهده .

2- تجربة تحضير شريحة لنسيج بشرة يضم الجهاز الثغري .

Preparation of slid to epidermic tissue content stomatal apparatus

المواد المطلوبة :

1- نسيج نباتي من اوراق نبات موز فحل canna (*Cautleya robusta*) .

2- شريحة زجاجية مع غطاء شريحة . 3- مجهر ضوئي . 4- عدة تشريح .

طريقة العمل :

1- أعمل على فصل طبقة البشرة من اوراق نبات موز فحل وهي الطبقة الرقيقة جدا من سطح الورقة والتي يمكن فصلها بسهولة .

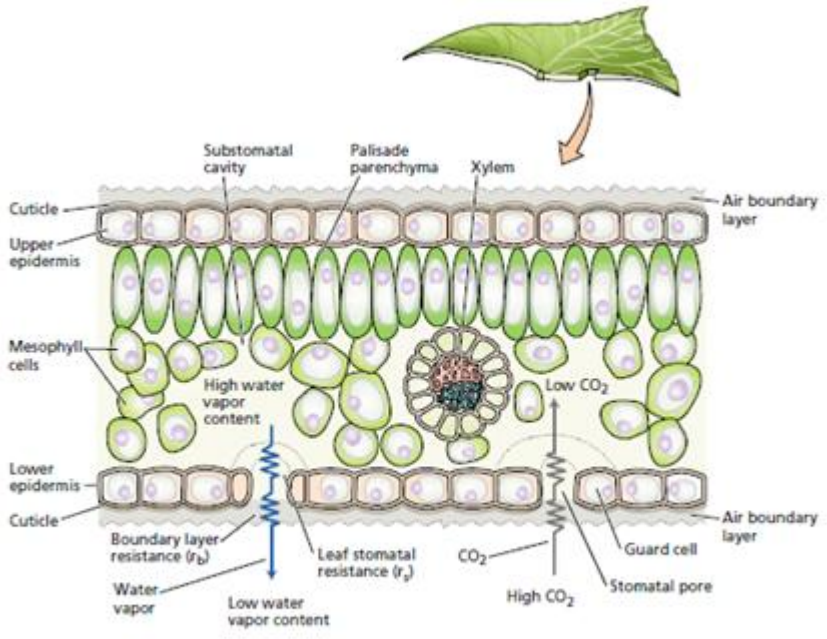
2- خذ شريحة زجاجية نظيفة وضع في وسطها قطرة ماء مقطر .

3- خذ جزء من نسيج الطبقة الرقيقة التي قمت بفصلها وضعها في قطرة الماء .

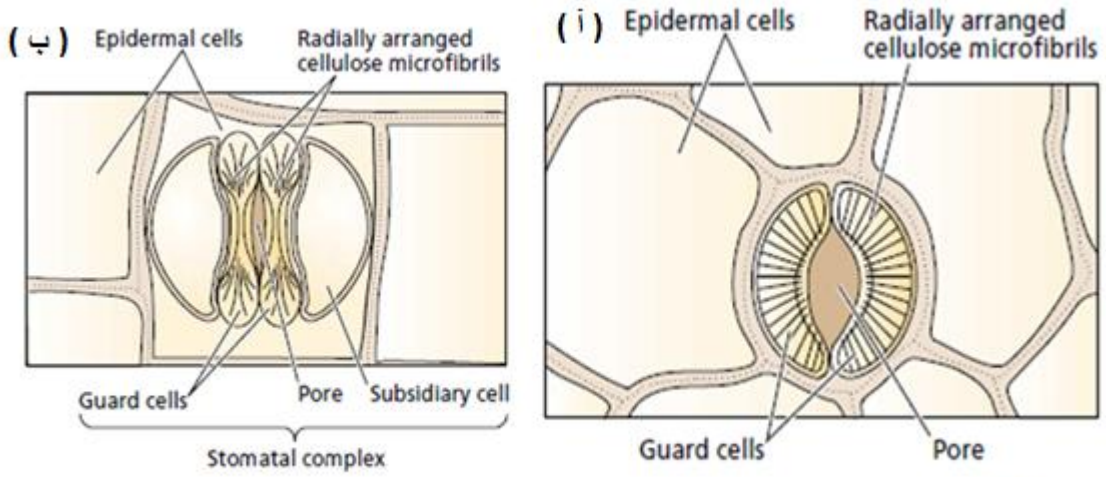
4- ضع غطاء الشريحة برفق وبشكل يضمن التخلص من فقاعات الهواء .

5- ضع الشريحة والنموذج على مسرح المجهر وأفحص تحت القوة الصغرى ثم وضح الشكل وأجزاءه تحت القوة الكبرى .

وقارن مع الشكل (7). فضلاً عن ذلك يوضح الشكل (8) رسم تخطيطي لمقطعين عرضي وطولي لخلية حارسة .



شكل (7) مقطع عرضي في نسيج ورقة يضهر موقع الثغور ، عن(2006) Taiz and Zeiger



شكل (8) الجهاز الثغري في الورقة (أ) مقطع عرضي (ب) مقطع طولي لخلية حارسة ، عن Taiz and Zeiger (2006)

3- تجربة مقارنة كثافة الثغور على سطحي الورقة .

Comparsion of stomatal apparatus on toow foliar surface.

العدد الاكبر للثغور stoma تتواجد على السطح الاسفل لاوراق النباتات مقارنة بعدد اقل على السطح العلوي للاوراق ويمكن اثبات ذلك من خلال عمل شريحتين لنسيج من خلايا اوراق نبات موز فحل canna (*Cautleya robusta*) الشريحة الاولى من الجهة العليا لنصل الورقة بينما تعمل الشريحة الثانية من نسيج بشرة الجهة السفلى للورقة . قارن بين عدد الثغور بين الوجهتين وارسم ماتشاهده.

ثالثا- الكشف الكيميائي لبعض مكونات الخلية النباتية

تجربة الكشف عن بعض المواد التي تدخل في تكوين الخلية النباتية.

المواد المطلوبة :

1- مجهر ضوئي .
2 - شرائح زجاجية .
3- محلول Chloro-Zinc-Iodine .
4 - محلول كبريتات النحاس 5% .
5 - محلول الصودا الكاوية 50% .
6 - محلول Sudan III .
7 - كحول اثيلي 50% .
8 - كلسرين .
9 - محلول اليود في يوديد البوتاسيوم Potassium Iodide . 10 - بذور فاصوليا و باقلاء و ذرة صفراء منقوعة في الماء مدة 24 ساعة و درنات بطاطا و نبات الخروع .

طريقة العمل :

1- الكشف عن السليلوز Cellulose

خذ قطاعا من بذرة فاصوليا تم نقعها بالماء لمدة 24 ساعة ثم ضعه على شريحة زجاجية وأضف إليه قطرتين من محلول Chloro-Zinc-Iodine ثم افحص تحت المجهر مستعملا" العدسة

ذات القوة الكبرى للتكبير ولاحظ انتفاخ جدر الخلايا وتلونها باللون الأزرق . ارسم ما تشاهده وسجل الملاحظات.

كرر التجربة بأكثر من أسلوب وكالاتي :

الاول : خذ 10سم^3 من محلول كبرتات الانيلين Aniline Sulphate وأغمس فيه قطعة خشب (عود ثقاب) . تلاحظ تلوث الخشب باللون الاصفر الزاهي مما يدل على احتوائه على السليلوز الملكنن.

الثاني : خذ مقطعا عرضيا من ساق اي نبات متوفر (مثلا الخيار) وضعه على شريحة زجاجية ثم أضف اليه قطرة من محلول كبريتات الاثيلين وأفحص تحت المجهر بالعدسة ذات القوة الكبرى لاحظ تلون الاجزاء السليلوزية الملكننة باللون الاصفر الزاهي .

الثالث : خذ مقطعا عرضيا اخر من نفس النبات واستبدل محلول كبريتات الانيلين بمحلول Phloroglucin في حامض HCL بأضافة قطرتان منه على المقطع النباتي ولاحظ تلون الاجزاء السليلوزية الملكننة بلون احمر قرمزي .

2- الكشف عن النشأ Starch

خذ قطعة رقيقة جدا" من نسيج درنة بطاطا وضعها فوق شريحة زجاجية ثم ضع فوقها عدة قطرات من محلول اليود في ايوديد البوتاسيوم Potassium Iodide ستلاحظ تلون النشأ بلون ازرق . افحص تحت المجهر وارسم ما تشاهده وسجل الملاحظات.

3- **الكشف عن السكريات Sugars**

التجربة الأولى

1- خذ 5سم^3 من مستخلص نباتي (مثلا" مستخلص ثمار العنب أو النسغ النازل) وضعه في أنبوبة اختبار test tube .

2- أضف إليه حجم مماثل (5 سم^3) من محلول بندكت.

3- ضع أنبوبة الاختبار في حمام مائي واتركها تغلي لمدة 5 دقائق. دَون ما ستلاحظه وعلل النتائج .

التجربة الثانية:

1- خذ 5 سم^3 من مستخلص نباتي وضعها في أنبوبة اختبار.

2- بحذر أضف إليه 5 سم^3 من حامض النتريك (5%) .

3- ضع أنبوبة الاختبار في حمام مائي يغلي لمدة 5 دقائق.

4- أخرج أنبوبة الاختبار من الحمام المائي وقم بتبريدها من الخارج تحت ماء الحنفية.

5- أضف إلى محتوى أنبوبة الاختبار محلول بندكت بحجم يساوي نصف محتواها .

6- أعد الأنبوبة إلى حمام مائي يغلي لمدة 5 دقائق.

7- لاحظ تغير لون محتوى الأنبوبة وحدد كمية الراسب الذي يتكون في قعر الأنبوبة وقارنه بما حصلت عليه من التجربة الأولى. دون ملاحظاتك وعلل النتائج للاختلاف بين التجربتين.

وللتمييز بين انواع السكريات المتعددة تستعمل صبغة اليود فبعض السكريات المتعددة مثل الاميلوز والاميلوبكتين والكلايكوجين والدكسترين تعطي الوان خاصة بكل منها عندما تتحد مع اليود . فالكاربوهيدرات الغنية بالاميلوز تعطي لون ازرق غامق يميل الى اللون الاسود . اما المركبات الغنية بالاميلوبكتين والكاربوهيدرات المحتوية على تفرعات جانبية فتعطي لون ازرق فاتح او اقل غمقا من السابق , بينما تعطي الكاربوهيدرات المحتوية على تفرعات كثيرة جدا مثل الكلايكوجين لون اسمر فاتح .

نفذ تجربة لانواع مختلفة من السكريات المتعددة ودون ملاحظاتك واكتب تقرير التجربة .

4- الكشف عن البروتين Protein

توجد البروتينات في الخلايا أما بصورة حرة في النواة أو على شكل حبيبات الاليرون Alerone grains كما في غلاف حبة الذرة الصفراء حيث يتكون غلاف الحبة من الغلاف ألثمري. الغلاف البذري وطبقة الاليرون . أما للاندوسبيرم فيتكون من النشأ .

خذ مقطعا" عرضيا" من حبة الذرة المنقوعة وقم بمعاملته بمحلول كبريتات النحاس 5% لمدة 30دقيقة بعدها اغسل النسيج جيدا بالماء المقطر وحمله في محلول الصودا الكاوية 50% ولاحظ تصبغ المواد المحتوية على البروتين باللون الأحمر أو البنفسجي المزرق حسب تفاعل بيوريت Biuret reaction افحص تحت المجهر وارسم ما تشاهده وسجل ملاحظاتك.

5- الكشف عن اللبيدات Lipids

خذ قطعة رقيقة من نسيج نبات الخروع أو مقطع من نسيج السويداء لبذرة نبات الخروع وضعها في محلول صبغة Sudan III واتركها مدة (20) عشرون دقيقة بعدها أغسل قطعة النسيج النباتي بالكحول الاثيلي 50% ثم حمل قطعة النسيج في الكليسرين وافحص تحت المجهر سيظهر تحت المجهر نقاط الزيت في النسيج النباتي وقد تلونت باللون الأحمر . أرسم ما تشاهده وسجل ملاحظاتك.

الفصل الثاني

الأغشية الخلوية **Cellular membranes**

يوجد مجموعة من الأغشية في الخلية والتي تتضمن :

أ- الغشاء البلازمي Plasma membrane: هو الطبقة الخارجية للبروتوبلازم والذي يحيط المادة البروتوبلازمية من الخارج ويسمى Ectoplast وبذلك يبطن جدار الخلية من الداخل ويطلق عليه أيضا Plasmalemma وهو غشاء منفرد.

ب- غشاء الفجوة العصارية Tonoplast : وهو أيضا غشاء منفرد.

ج- غشاء البلاستيدات Plastid envelope غشاء مزدوج.

د- غشاء المايتوكوندريا Mitochondrial envelope غشاء مزدوج.

هـ- غشاء النواة Nuclear envelope غشاء مزدوج.

فضلاً عن ذلك توجد أغشية خلوية تحيط بالعضيات الأخرى للخلية ومن هذه الأغشية Golgi membrane ، Lysosomal membrane.

وتمتاز الأغشية الخلوية بمرونتها ومقدرتها على تجديد ما يتلف منها ويعتقد بان هذه الأغشية تتكون من:

1- المركبات البروتينية . 2- المركبات الدهنية .

3- الكالسيوم . 4- الماء .

كما يعتقد بوجود ثقوب في الأغشية الخلوية وهذه الثقوب من الدقة لا يمكن معه رؤيتها بالمجهر الالكتروني وافترض أن مرور جزيئات المواد عبر الأغشية يعتمد ذوبانها بالدهون وعلى حجم الدقائق إضافة إلى سعة ثقوب الغشاء الخلوي .

النفاذية The permeability

أن دخول المواد إلى الخلايا الحية وخروجها منها يعتمد على خاصية نفاذية غشاء الخلية ، فالغشاء أما إن يكون نفاذ Permeable عندما يسمح بمرور لكلا جزيئات المذيب والمذاب كما هو الحال بالنسبة لجدار الخلية والسايتوبلازم ، أو يكون غشاء شبه نفاذ Semi permeable عندما يسمح بمرور بعض المواد ولا يسمح بمرور مواد أخرى كما في غشاء البلازما أو يكون الغشاء غير نفاذ Impermeable عندما لايسمح الغشاء بمرور أية مادة كما في الكيوتكل Cuticle.

التجربة العملية : نفاذية الأغشية الخلوية .

تجربة تأثير بعض المواد ودرجة الحرارة في نفاذية الأغشية الخلوية.

Effect of some substances and temperature on the permeability of cell membranes.

الموادالمطلوبة:

1- جذور نبات الشوندر. 2- شفرة قطع أو مشرط وملقط .

3- بيكر حجم 50 أو 100 مللتر عدد8 . 4- مسخن (Heater) أو حمام مائي.

5- ماء مقطر. 6- مواد كيمياوية مثل NaCl ، $CaCl_2$ ، NaOH ، كحول اثيلي مطلق.

طريقة العمل:

1- حضر المحاليل المبينة في أدناه حسب تركيز كل منها:

أ- محلول كلوريد الصوديوم NaCl 0.3 عياري وضع منه 20 مل في بيكر.

ب- محلول كلوريد الكالسيوم $CaCl_2$ 0.3 عياري وضع منه 20 مل في بيكر آخر.

ج- محلول هيدروكسيد الصوديوم NaOH 0.1 عياري يوضع 20 مللتر منه في بيكر رقم 3.

د- كحول اثيلي مطلق يوضع 20 مللتر منه في بيكر رقم4 .

هـ- كحول اثيلي بتركيز 20% يوضع 20 مللتر منه في بيكر رقم5 .

و- ماء مقطر بدرجة حرارة 4°م يوضع 20 مللتر منه في بيكر رقم 6 .

ز- ماء مقطر بدرجة حرارة 25°م يوضع 20 مللتر منه في بيكر رقم7.

ح- ماء مقطر بدرجة حرارة 80°م يوضع 20 مللتر منه في بيكر رقم 8 .

2- أعمل قطع مكعبة متساوية في الشكل والحجم من جذور نبات الشوندر ثم ضع قطعة واحدة في كل من البيكرات الثمانية التي تحوي المحاليل المختلفة .

3- إترك قطع نسيج الجذر في المحاليل لمدة 30 دقيقة بعدها استخرج تلك القطع باستخدام الملقط وأتلفها.

4- سجل ملاحظاتك عن درجة لون المحاليل . اكتب التقرير وفسر النتائج .

الانتشار Diffusion

هو الحركة التلقائية العشوائية لدقائق المادة والتي تحدث نتيجة لفرق الطاقة الحرة بين نظامين. وتعرف الطاقة الحرة Free energy لأية مادة بأنها كمية الطاقة الممكنة لأداء شغل ويعبر عن الطاقة الحرة في الوزن الجزيئي الغرامي للمادة بأنها الجهد الكيميائي الذي يقاس بوحدات الطاقة المعروفة مثل جول / مول Joule / mole والتي يمكن تحويلها إلى وحدات الضغط (باسكال Pascal) المعتمدة في الوقت الحاضر. ويعتمد الجهد الكيميائي لأية مادة تحت ظروف ثابتة من

ضغط ودرجة حرارة على عدد الأوزان الجزيئية الغرامية الموجودة في تلك المادة لذلك يكون الجهد الكيميائي للمادة المركزة مرتفع وتنتشر المادة نحو الجهة التي يكون فيها الجهد الكيميائي منخفض. فمقدار ما ينتقل من مادة ما من خلية نباتية إلى أخرى ضمن الأنسجة المختلفة يحصل بعملية الانتشار الذي يتأثر بعدد من العوامل التي هي ذاتها لمختلف حالات المادة الصلبة والسائلة والغازية عدى أن انتشار المواد الغازية يفوق آلاف المرات انتشار المواد الصلبة بسبب ارتفاع الوزن الجزيئي للمواد الصلبة وكثافتها العالية التي تفوق كثافة الغاز (الهواء) .

التجربة العملية : ظاهرة الأنتشار .

1- تجربة توضيح ظاهرة الانتشار Explain of diffusion phenomenon

المواد المطلوبة :

1- بيكر زجاجي حجم 250 – 400 مللتر. 2- كبريتات النحاس .

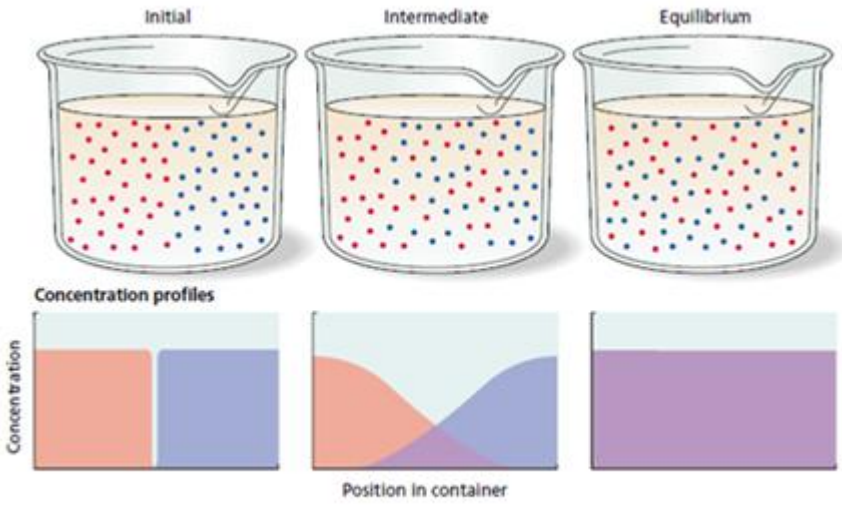
3- ماء مقطر .

طريقة العمل :

1- ضع حجم معين من الماء المقطر 150 – 200 مللتر في البيكر واجعله يستقر فوق المنضدة.

2- خذ وزن 1 – 2 غم من كبريتات النحاس وضعها داخل البيكر بحيث تتم إضافتها عند احد جوانب البيكر دون تحريك.

سجل ملاحظاتك عن الوقت اللازم لانتشار كبريتات النحاس إلى كافة جهات الماء داخل البيكر حتى حصول حالة التجانس للمحلول . إن حركة جزيئات أو ايونات المادة تعتمد على الطاقة العالية في موقع الإضافة مما يدفعها إلى الاتجاه البعيد التي يكون فيها الطاقة منخفضة ((من منطقة الجهد الكيميائي العالي إلى منطقة الجهد الكيميائي المنخفض)) وتتأثر عملية الانتشار بعدة عوامل منها مقاومة الاحتكاك ، التركيز ، مساحة المنطقة التي تتم عبرها المادة المنتشرة والوزن الجزيئي وحجم الجزيئات المنتشرة ، درجة الحرارة والضغط بالإضافة إلى وسط الانتشار وقابلية ذوبان الدقائق المنتشرة فالماء والايونات والغازات تدخل النبات عن طريق عملية الانتشار وهي من العمليات الحيوية في النباتات. أما ظاهرة الانتشار في الخلايا النباتية فيمكن توضيحها من خلال تعيين مقدار العجز في ضغط الانتشار، ويوضح الشكل التالي عملية الأنتشار في السوائل .



شكل (9) عملية الأنتشار في السوائل ، عن Taiz and Zeiger (2006)

2- تجربة تقدير العجز في ضغط الانتشار Calculate of the diffusion pressure deficit.

في هذه التجربة سيتم تقدير العجز في ضغط الانتشار لخلايا درنات البطاطا من خلال التغير الذي سيحصل في قطر أو طول أو وزن شرائح النسيج الذي يستعمل في التجربة.

المواد المطلوبة :

1- درنات بطاطا طرية. 2- حفارة فلين عريضة ورفيعة.

3 - محلول ملح كلوريد الصوديوم NaCl بالتراكيز المبينة في الجدول أدناه. 4- ميزان حساس .

5- بيكر زجاجي حجم 200 مل عدد 6 . 6- شفرة قطع أو مشرط.

7- القدمة Vernier لقياس الطول أو السمك. 8- ورق نشاف .

طريقة العمل :

1 - حضر المحاليل حسب التراكيز المثبتة في الجدول أدناه لمحلول كلوريد الصوديوم وخذ من كل تركيز حجم 100 مل ضعه في بيكر وثبت له رقم تسلسل حسب التركيز من 1- 6 ونظم جدول كما في أدناه .

ت	غم/لتر كلوريد الصوديوم	الضغط التنافذي للمحلول ضغط جوي	قياسات قبل التجربة			قياسات بعد أنتهاء التجربة		
			طول	قطر	وزن	طول	قطر	وزن
1	6.525	5						
2	13.050	10						
3	19.575	15						
4	26.100	20						
5	32.625	25						
6	39.150	30						

2- أزل قشرة درنات البطاطا واستعمل أولا" الحفارة ذات القطر الضيق في تحضير قطع اسطوانية من نسيج الدرنات . ثم قطع هذه القطع الاسطوانية إلى مجموعتين

أ- 6 قطع بطول 1سم تقريبا" ب- 6 قطع بطول 0.5 سم تقريبا"

3- استعمل القدمة في قياس طول كل شريحة اسطوانية من نسيج الدرنة (المجموعة أ) وحدد طولها بدقة وثبته في الجدول مقابل رقم البيكر الذي تضعها فيه.

4- استعمل الميزان الحساس في تحديد وزن كل شريحة اسطوانية من نسيج الدرنة (المجموعة ب) وحدد وزنها بدقة وثبته تحت صفة الوزن مقابل رقم البيكر الذي ستضعها فيه.

5- استعمل الحفارة ذات القطر العريض وحضر قطع اسطوانية من نسيج الدرنات وقطعها إلى شرائح سمك كل منها 2 ملم بالضبط. وضع كل واحدة منها في بيكر.

6- اترك قطع وشرائح البطاطا في المحاليل لمدة ساعة. ثم هيئ ورقة نشاف بجانب كل بيكر وابدأ بإخراج القطع والشرائح وتخلص مما علق بها من محلول باستعمال ورق النشاف وقم بتقدير ما يأتي:

يتم تقسيم الطلاب إلى مجاميع عدد طلابها من 2 – 3 طلاب للمجموعة.

أ- طول الشرائح التي تم قياس طولها قبل التجربة وثبته في الجدول واستخرج الفرق في الطول.

ب- وزن الشرائح التي تم تحديد وزنها قبل التجربة وثبته في الجدول واستخرج الفرق في الوزن.

ج- سمك الشرائح التي تم قياس سمكها قبل التجربة وثبته في الجدول واستخرج الفرق في السمك.

من نتائجك والجدول السابق قدّر العجز في ضغط الانتشار حيث أن DPD = OP – TP

علما أن الضغط التنافذي لأي محلول يعتمد على تركيزه وان مقدار الضغط الانتشاري لا يساوي الضغط التنافذي وان الضغط التنافذي للماء المقطر يساوي صفرا". فسر نتائجك عند كتابة تقرير

التجربة. أن حركة الماء عبر الأغشية الخلوية ينظر أليها بمنظار يختلف عن حركة المواد الذائبة فقد تعتمد حركة الماء على ظاهرتي :

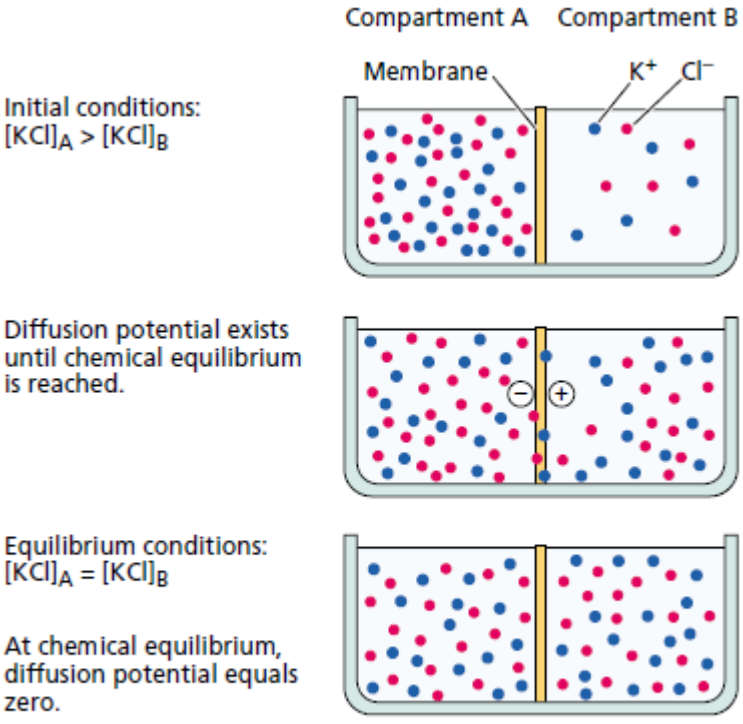
أ- **التناضح (التنافذ) أو الاوزموزية Osmosis** وهي عملية انتشار المحاليل خلال أغشية شبه نفاذة وعندما يكون الماء هو المذيب .

ب- التشرب Imbibtion هو نوع من إنتشار السوائل نتيجة الفرق في الجهد (عجز في ضغط الانتشار) بين سائل التشرب والمادة المتشربة .

أ- التناضح (التنافذ) أو الاوزموزية Osmosis

هو انتشار جزيئات المذيب (الماء) عبر أغشية نصف ناضحة (شبه منفذة) Semi- permeable membranes أو الأغشية ذات النفاذية الاختيارية Differentially permeable membranes من الوسط الذي يكون فيه تركيزها عالي إلى الوسط الذي يكون فيه تركيز تلك الجزيئات قليل ويستمر الانتقال حتى يحصل التوازن الديناميكي.

أو هو عملية انتشار المحاليل خلال أغشية شبه نفاذة عندما يكون الماء هو المذيب. وفي الحقيقة لاتوجد أغشية شبه منفذة بصورة تامة فلابد لفتحات هذه الأغشية من أن تسمح بمرور بعض الدقائق المذابة كما في حالة الأغشية البلازمية الحية لخلايا النبات. ويوضح الشكل (10) رسم توضيحي لهذه الظاهرة .



شكل (10) توضيح لظاهرة الأنتشار عبر الأغشية حتى حصول الأتزان الكيميائي للمحلول ، عن(Taiz and Zeiger (2006

التجارب العملية : ظاهرة التناضح .

1- تجربة أثبات ظاهرة التناضح خلال أغشية خلايا النبات.

Demonstrate the phenomenon of osmosis through plant cells membranes.

المواد المطلوبة :

1- بيكر زجاجي حجم 500 مللتر .
2- أنبوب زجاجي شعري مدرج بطول 30سم .
3- حامل حديدي مع ماسكة .
4- سدادة فلينية .
5- شفرة قطع أو مشرط .
6- درنات بطاطا .
7- سكروز .
8- ماء مقطر .

طريقة العمل :

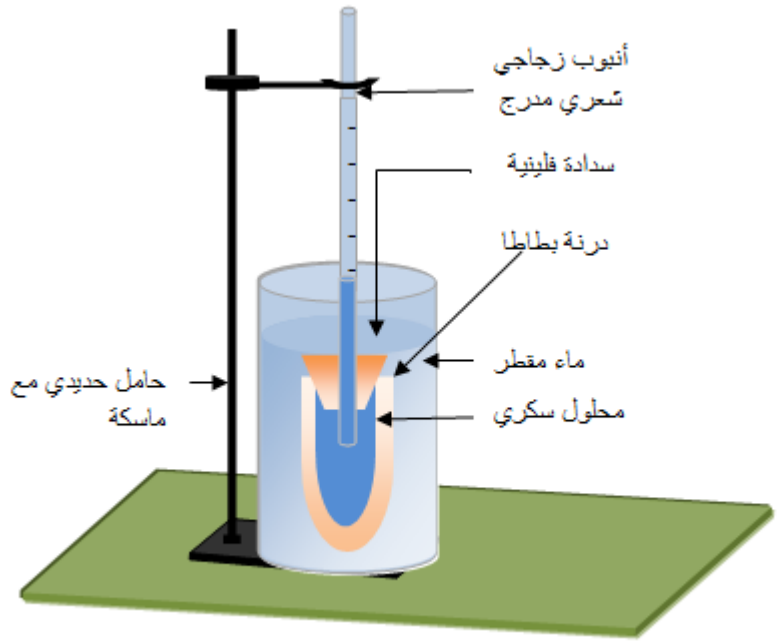
1- حضر محلول سكري بتركيز 40 -50% وزن / حجم.

2- أعمل ثقب غير نافذ في درنة بطاطا بآله حفر ثمار الخضر بحيث يتشكل تجويف اسطواني.

3- أملأ التجويف بالمحلول السكري وأغلق فوهة ثقب الدرنة بسدادة فلينية مع مراعاة إمرار الأنبوب الزجاجي الشعري بحيث ينزل طرفة داخل المحلول السكري عبر السدادة الفلينية ويثبت طرفه العلوي بالماسكة التي تستند إلى حامل حديدي كما في شكل(11) .

4- ضع حجم من الماء المقطر في البيكر الزجاجي واغمر درنة البطاطا ومحتواها من المحلول السكري داخل ماء البيكر بحيث يغطي الماء محيط درنة البطاطا دون إن يرتفع فوق مستوى السدادة. تترك لمدة ساعات سيلاحظ ارتفاع عمود الماء في الأنبوب الزجاجي نتيجة لظاهرة التناضح الذي يحصل خلال خلايا الدرنة لان جزيئات الماء يمكن إن تنتشر عبر الأغشية نصف الناضحة من مناطق التركيز العالي إلى مناطق التركيز المنخفض .

ملاحظة: ماذا يحصل أذا عكسنا وضع المحلول السكري والماء. أو إذا تم قتل خلايا درنة البطاطا بالماء المغلي وتجمد السايتوبلازم وفقد طبيعته. هل سيرتفع عمود الماء أم لا ؟ علل السبب.



شكل (11) ظاهرة التناضح عبر أغشية خلايا درنات البطاطا

2- تجربة تقدير ضغط التناضح بدلالة تركيز المحلول .

Determind the osmotic pressure by dependence the concentration

لأظهار الترابط بين التناضح والضغط التناضحي والتركيز يمكن أجراء تجربة بسيطة توضح أعتماد الضغط التناضحي على تركيز المحلول .

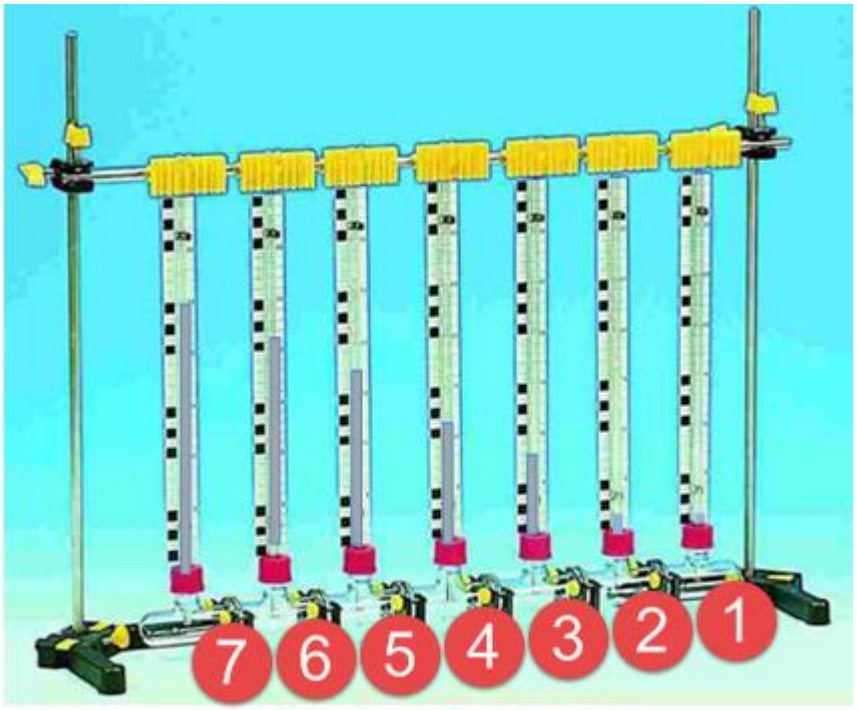
المواد المطلوبة :

1- زجاجيات (بيكرات ، أنابيب شعرية ، وعاء تناضح و أقماع ترشيح). 2- ميزان حساس .

3- قطع من السلوفان وسدادات مطاطية . 4- مسطرة قياس (عدد) متماثلة .

طريقة العمل :

قم بتحضير خمسة محاليل سكرية مختلفة التراكيز (5% ، 10% ، 15% ، 20% ، 25%) وذلك بوزن 5غم و10غم و 15غم و 20غم و 25غم وأذابة كل منها في 100 مللتر ماء مقطر . وبعد تجهيز 7 أنابيب زجاجية شعرية يتم تثبيت قطعة من السلوفان على الطرف القاعدي لهذه الأنابيب ، بعدها يتم ملئ الأنبوب الأول بالماء المقطر ويملئ الأنبوب الثاني بماء عادي (ماء من الصنبور) ثم يملئ أنبوب لكل من الأنابيب الباقية بأحد المحاليل السكرية المختلفة التراكيز التي تم تحضيرها ويتم تثبيتها كما في الشكل (12) . راقب التجربة لمدة 30 دقيقة وسجل أرتفاع المحاليل في الأنابيب الشعرية . أكتب تقرير التجربة وفسر النتائج التي حصلت عليها .



شكل (12) يظهر أختلاف مستوى المحاليل بحسب ضغط التناضح المعتمد على التركيز

ب- التشرب Imbibition

هو حركة المذيب أو الماء عندما يكون هناك فرق في الجهد المائي بين سائل التشرب والمادة المتشربة Imbibant والذي لايحصل عبر أغشية. أو**عملية امتزاز** (تجمع سطحي) Adsorption للمذيب على أسطح الدقائق ذات الطبيعة الغروية التي تقيد حركة الماء وتمسك بجزيئاته. أو هو جذب جزيئات الماء والتمسك بها بين جزيئات المادة المتشربة. يتأثر معدل التشرب بعاملين هما :

1- درجة الحرارة : تؤثر درجة الحرارة على معدل عملية التشرب لكنها لا تؤثر على كمية الماء المتشربه ، فزيادة درجة الحرارة يزيد معدل التشرب وسنوضح ذلك في تجربة عملية . وتعد ظاهرة زيادة معدل التشرب المفتاح الأساسي لبدء الفعل الأنزيمي مهمة في تسريع أنبات بذور المحاصيل المختلفة خاصة الصيفية منها والتي يجري أنبات بذورها بدرجات حرارة تتراوح بين 18- 32 ° م فأذا ماسُرع أنبات البذور وقلت المدة اللازمة للأنبات يوم واحد مقارنة بالبذور الأخرى التي يتأخر أنباتها فأنها ستُبكر بنضج ذلك المحصول مدة قد تصل أسبوع . ويعد ذلك مهم من الناحية الأقتصادية للمزارعين ، لذلك يعمل الفلاحين في بعض المناطق من العراق الى تسريع أنبات بذور محاصيل الخضر من خلال نقع البذور مدة 4 – 6 ساعة بالماء بعدها توضع في كيس من القماش القطني(أو گُونيَه) الذي تم تغطيسه في ماء يغلي قبل بضع دقائق ويطوى الكيس بعدة طبقات حول البذور ويوضع بالقرب من مدفئة من المساء حتى الصباح ، حيث تفتح

وتفحص ويستبعد منها البذور التي لم تشققت أغلفتها والتي لم يظهر منها بداية الجذير وتزرع فقط البذور التي تشققت أغلفتها وظهرت بدلية الجذير منها .

2- الجهد التناضحي (الأوزموزي) للمادة المشَربة : أذ يؤدي هبوط الجهد التناضحي للمادة المشَربة الى نقص في معدل التشرب . وسنتعرف على ذلك بالتجربة العملية .

ولكي تحصل عملية التشرب لابد من توفر شرطين هما:

أ- حصول تدرج في الجهد المائي بين سائل التشرب والمادة المتشَربة.

ب- وجود تجاذب بين النظامين مثلا" يحصل تشرب لقطعة الخشب بالماء بينما تتشرب قطعة المطاط بالايثر.

وهذا يعني أن القوى التي تحدد الجهد المائي ترتبط بطبيعة المواد الموجودة ففي البذور الجافة يوجد البروتين وهو مادة غروية محبة للماء ، كما توجد المواد الكاربوهيدراتية على هيئة نشأ أو على صورة سليلوز وهي أيضا" مواد ذات طبيعة غروية تلتصق جزيئات الماء بها بشدة وهي مواد عالية التشرب ومن خلال تشرب تلك المواد بالماء تحصل البذور على الماء اللازم لعملية الإنبات. وتمتلك الأجزاء الخشبية (قطعة الخشب) على السليلوز المكون الرئيسي لها مما يجعلها تتشرب بالماء ، كما أن التشرب يحصل في الخلايا الحية والميتة على حد السواء .

مما سبق نستدل على أن مثل هذه المواد تلعب دورا" مهما" في تحديد الجهد المائي ومما يجدر الإشارة أليه إن قلة أهمية الجهد الازموزي والضغط الانتفاخي لمثل تلك الأنظمة يعود لعدم وجود أغشية ذات نفاذية اختيارية تفصل بين سائل التشرب والمواد المتشربة. ومن العمليات التي تعتمد على ظاهرة التشرب في عالم النبات الآتي:

1- عملية الإنبات التي يتم فيها تشرب البذور بالماء حيث ينشأ عنه ضغط يسمى ضغط التشرب Imbibition pressure وهو أعلى ضغط كامن ممكن أن يتكون في المادة المتشربة عند وضعها في سائل تشرب (مذيب) نقي. وتؤدي هذه الظاهرة دور في تمزيق قصره البذور المتشربة لتسهيل بزوغ الجنين أثناء الإنبات.

2- عملية نقل الماء من الجذر إلى الورقة التي يتم جزء كبير منها من خلال تشرب الجدر الخلوية نتيجة فرق الجهد المائي بين أنسجة الورقة والساق والجذر نتيجة لتأثير عملية النتح.

أن عملية التشرب تؤدي إلى رفع درجة حرارة المحلول المتشرب نتيجة للامتزاز الشديد لجزيئات الماء مما يؤدي إلى فقدها لبعض طاقتها الحركية Kinetic energy حيث تتحول هذه الطاقة إلى صورة أخرى للطاقة وهي الحرارة. ويعد أنبات البذور أهم ما يعني الجانب الزراعي الذي يرتبط بالتشرب . فالبذور الجافة لا تنبت (أذا كان محتواها الرطوبي أقل من 40 - 60 % (على أساس الوزن الرطب)) فبعد الزراعة وأجراء عملية الري تتشرب البذور بالماء بسرعة وتنتفخ ، يعقب ذلك أنخفاض في معدل التشرب ثم لا يلبث أن يزداد أستهلاك الماء وذلك نتيجة لظهور

الجذير Radicle وبدء عملة الأمتصاص . أن عملية التشرب تحصل في البذور الحية والبذور الميتة على حد سواء . وتختلف كمية الماء اللازمة لبدء الأنبات حسب نوع البذور ، فبذور البقوليات تحتاج كمية ماء تعادل ضعف كمية الماء التي تحتاجها حبوب النجيليات وذلك لأختلاف المركبات المخزونة في كل نوع نباتي . فالبروتين يمتص 180% من وزنه ماء . النشأ يمتص 70% من وزنه ماء . السيليلوز يمتص 30% من وزنه ماء .

تعرف عملية الأنبات Germination من الناحية النباتية بأنها أستئناف الجنين للنمو النشط والذي ينتج عنه تمزيق غلاف البذرة وأبتداء خروج الجذير Radicle والرويشة Plumule من غطاء البذرة لتكوين البادرة Seedling. كما يُعرف الأنبات في مختبرات فحص وأختبار البذور بأنه تكوين الأعضاء الأساسية من الجنين وخروجها من غلاف البذرة .

ويتضمن الأنبات ثلاثة أطوار رئيسية :

1- الطور الأول : طبيعي Physical هو عملية التشرب بالماء والأنتفاخ . فعند توفر الماء تتشرب به البذور وتنتفخ ، ولذلك يتوقف حصول الأنتفاخ في البذور على نوع البيئة . فالتربة الرملية تحوي كمية ماء أكبرمما يتوفر في ورق الترشيح ، ويكون التشرب والأنتفاخ أنشط وأسرع خلال 2 – 4 ساعات من أبتداء ترطيب البذور .

2- الطور الثاني : كيموحيوي Biochemical هو تليل وهضم الماد الغذائية المخزنة . وفي هذا الطور يبتدء نشاط الأنزيمات (العمليات الكيميائية) فضلاً عن تخليق بعض الأنزيمات الجديدة كما تنشط بعض المركبات الكيميائية الخاصة بأنتاج الطاقة اللازمة لعملية الأنبات مثل (Adenosine triphosphate (ATP .

3- الطور الثالث : فسيولوجي Physiological هو النمو ، فبعد التغيرات السابقة يبدء نمو أجزاء الجنين ويحصل نمو البادرة الصغيرة كنتيجة لأستمرار الأنقسام الخلوي الذي يحدث في مواقع النمو المختلفة والموجودة على محور الجنين . وتعد درجة الحرارة مع توفر رطوبة معتدلة أهم الظروف اللازمة لهذه المرحلة .

التجارب العملية : التشرب .

1- تجربة إثبات حصول عملية التشرب . the imbibition Demonstration of

المواد المطلوبة :

1- قطع جيلاتين جافة بمساحة 2 سم^2 . 2- بيكر حجم 200 أو 300 أو 400 مللتر.

3- ورق نشاف Blotting paper. 4- ماء مقطر.

طريقة العمل :

1- ضع قطع الجيلاتين في البيكر ثم أضف حجم 150 مللتر من الماء المقطر وأتركها مدة تتراوح من 2 – 4 ساعات.

2- حضر ورق النشاف بجانب البيكر واستخرج قطع الجيلاتين وضعها على ورق النشاف للتخلص من الماء العالق بها ، ثم أوزنها أو قدر المساحة السطحية لقطع الجيلاتين وأوجد الفرق بين الوزن أو المساحة السطحية لقطع الجيلاتين قبل التشرب بالماء وبعده ، سجل الملاحظات وفسر النتائج عند كتابة تقرير التجربة.

أن تشرب المواد بالماء يؤدي إلى زيادة في حجم تلك المواد(قطع الجيلاتين ، البذور ، قطع الخشب ، الخ) مما يعني إنه يولد ضغطا" يعرف بضغط التشرب Imbibition pressure يمكن تعيين قيمته من مقدار الماء الممتص (مقدار العجز في ضغط الانتشار) والذي يعادل ضغط التشرب مطروح منه ضغط الانتفاخ.

Diffusion pressure Deficit = Immbibition pressure – Turgor pressure.

مقدار الماء الممتص = ضغط التشرب – ضغط الانتفاخ.

أو (العجز في ضغط الانتشار) DPD = IP – TP

ولعدم وجود ضغط الانتفاخ (TP) لذلك تكون المعادلة:

مقدار الماء الممتص أو (عجز ضغط الانتشار) = ضغط التشرب .

2- تجربة تأثير درجة الحرارة في معدل التشرب .

Effect of temperature on the rate of imbibition .

المواد المطلوبة :

1- بذور لأنواع مختلفة من النباتات . 2- بيكر زجاجي حجم 200 مللتر عدد 3 لكل طالب .

3- ميزان حساس . 4- ورق نشاف .

5- ماء مقطر . 6- أسطوانة زجاجية مدرجة .

طريقة العمل :

1- خذ وزن 10غرام من بذور أحد الأنواع النباتية وضعها في كل من البيكرات الزجاجية الثلاث .

2- أضف حجم 100 مل من الماء المقطر الى كل من البيكرات .

3- ضع البيكر رقم 1 في الثلاجة بدرجة حرارة بين 0 – 4 °م ، و ضع البيكر رقم 2 في المختبر بدرجة حرارة 20- 25 °م ، و ضع البيكر رقم 3 في فرن بدرجة حرارة قدرها 40 °م .

4- أترك التجربة لمدة 30 دقيقة بعدها أرفع البذور من الماء وتخلص من الماء الذي يعلق بها بأستخدام ورق النشاف وقم بوزن البذور .

5- قم بقياس حجم الماء التبقي في كل من البيكرات وثبته في سجلك .

6- أعد البذور مرة أخرى كل منها الى البيكر الذي كانت فيه وأعد وضها في الموقع الذي وضعت فيه في بداية التجربة (الثلاجة و المختبر والفرن) .

7- كرر ما قمت به من عمل في التسلسل 4 و 5 من هذه التجربة وسجل النتائج .

8- أرسم منحنى بياني للتتغير الذي يحصل في وزن البذور وحجم الماء المتشرب مع زمن التجربة لكل حالات التجربة المدروسة .

9- قارن النتائج محدداً درجة الحرارة المثلى للتشرب التي حصلت عليها . وناقش الأسباب .

3- تجربة أثبات ضغط التشرب . Demonstration of imbibitional pressure

المواد المطلوبة :

1- قنينة زجاجية ذات تدريج مع سدادة فلينية محكمة للغلق. 2- بذور نباتات.

3- أقراص من ورق الالمنيوم بنفس القطر الداخلي للقنينة. 4- ماء مقطر.

طريقة العمل :

خذ وزن معين من البذور ضعها في القنينة الزجاجية ثم أضف لها حجم من الماء بحيث يغطي مستوى البذور وثبت عند هذا المستوى بالضبط قرص ورق الالمنيوم ثم أغلق فوهة القنينة بالسدادة الفلينية بحيث لا تسمح بنفاذ الهواء. مع ملاحظة تسجيل مستوى قرص ورق الالمنيوم أو تأشيره على السطح الخارجي للقنينة. انتظر حتى اليوم التالي (24ساعة) لاحظ مستوى قرص ورق الالمنيوم وكذلك وضع السدادة الفلينية. سجل ملاحظاتك وفسر النتائج عند كتابة تقرير التجربة.

4- تجربة قياس جهد غرويات البذور الجافة. Measurement of colloids pressure of dry seeds.

المواد المطلوبة :

1- بذور جافة لنباتات مختلفة.

2- بيكر زجاجي عدد 5 بحجم 250 أو 300 أو 400 مللتر.

3- ميزان حساس . 4- ماء مقطر.

5- سكر وملح طعام .

طريقة العمل :

1- حضر محلول بأربعة (4) تراكيز مثل 0.0 و 0.1 و 0.5 و 1.0 مول من محلول سكري أو ملحي . 2- جهز أربعة بيكرات حجم 250 مل وضع في كل واحد منها حجم 100 مل من واحد من التراكيز التي حضرتها وقم بتثبيت التركيز على البيكر.

3- خذ وزن 10غم من بذور جافة وضعها في كل واحد من البيكرات واتركها تتشرب لمدة 8 – 12 ساعة .

4- أستخرج البذور وقم بتخليصها مما علق بها من الماء بأستخدام ورق نشاف ثم ثبت وزنها. أن الجهد المائي للمحلول الذي يحدث أي تغير في وزن البذور التي نقعت فيه يناظر الجهد المائي للبذور (الذي يعني جهد غرويات البذور) ويمكن الاستفادة من الجدول أدناه لتقدير الجهد الازموزي للمحلول الذي تم تحضيره بعد تحديد حجم الماء الذي تشربت به البذور.

تركيز كلوريد الصوديوم مولال	الجهد الازموزي لكلوريد الصوديوم ميجا باسكال	حجم الماء لكل 100غم بذور
ماء مقطر 0.0	0.0	
محلول 0.1	0.4-	
محلول 0.5	1.9-	
محلول 1.0	3.8-	

5- تجربة أهمية فتحة النقير Micropyle للبذور .

تتكون بذور نباتات مغطاة البذور من جنين Embryo محاطة بأغلفة لحمايته وكمية من المواد الغذائية المخزونة في بعض اجزاء الجنين او بصورة منفصلة عنه في نسيج خاص يغلفه يعرف بالاندوسبيرم Endosperm وفي بذور بعض الاجناس يخزن الغذاء في الفلق Cotyledons . وتختلف اغلفة البذور بأختلاف انواع النباتات البذرية في طبيعتها وعدد اغلفتها فقد يكون غلافين كما في الفاصوليا (Common bean) *Phaseolus vulgaaris* والرقي (Water melon) *Citrullus colocynthis* .او غلاف واحد كما في البزاليا (sweet peas) *Pisum sativum* ، تنشا أغلفة البذور من أغلفة البويضة وعادة يوجد غلافان للبذرة الاول غلاف خارجي سميك جاف في الغالب يسمى بالقصرة Testa وتوجد عليه ندبة تسمى

السرة Hilum يدل على موضع اتصال البذرة بالحبل السري Funiculus كما يوجد في القصرة فتحة ضيقة جدا تسمى النقير Micropyle والغلاف الثاني داخلي رقيق وغشائي .

6- تجربة التعرف على موقع فتحة النقير ودوره في عملية التشرب في البذور .

المواد المطلوبة :

1- بذور فاصولياCommon bean أو باقلاء Broud bean أو حمص Chick peas . 2- عدة تشريح .

3 - شريحة زجاجية مع غطاء شريحة . 4- مجهر ضوئي .

طريقة العمل :

1 - أنقع البذور المتوفرة لمدة 24 ساعة قبل بدا التجربة .

2 - بواسطة الشفرة اعمل قطع لجزء البذرة الذي عند الضغط على البذرة تخرج فقاعات هواء منه .

3- أحصل على نسيج المقطع المطلوب وحضر شريحة زجاجية بقطرة ماء .

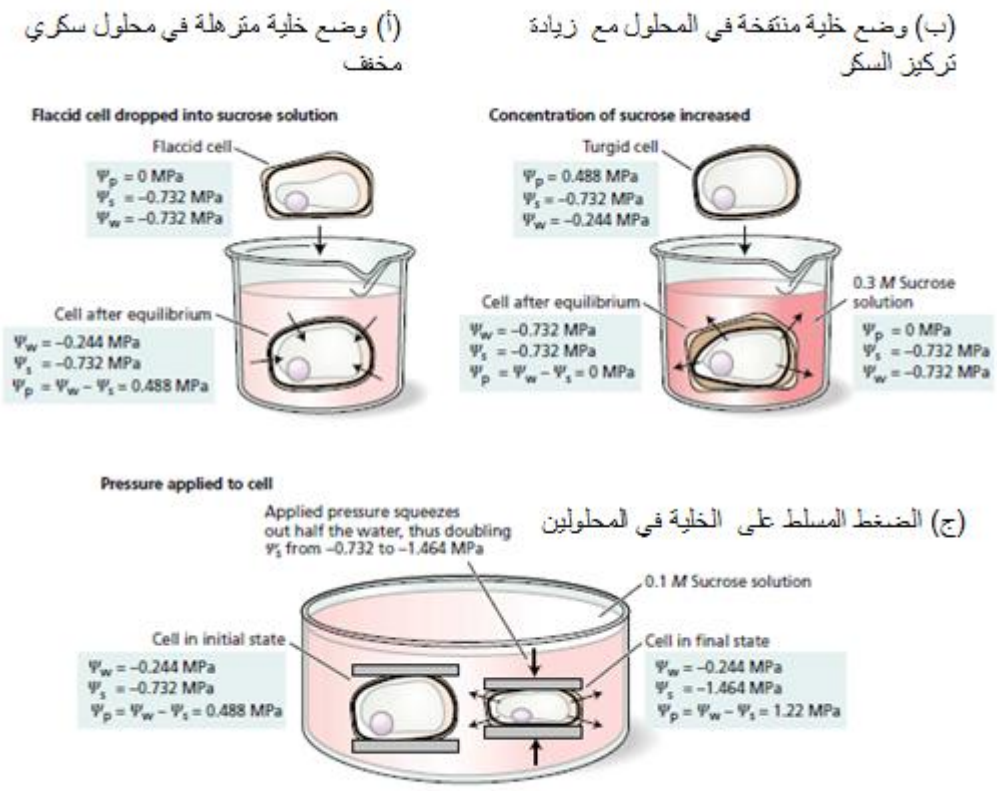
4- ضع المقطع وضع غطاء الشريحة .

5- ضع النموذج على مسرح المجهر وافحص معالم فتحة النقير التي تكون مختفية تحت تجعدات تضمن قفلها عند الجفاف .

البلزمة The plasmolysis

وهي ظاهرة خروج الماء من الخلية وانفصال البروتوبلازم عن جدار الخلية . أما قابلية إعادة امتصاص الماء وعودة الخلية إلى حالتها الأصلية فتدعى بتضاد البلزمة Deplasmolysis. فعندما نضع الخلية في محلول متعادل التركيز Isotonic مع محلول العصير الخلوي فأننا لانلاحظ أي تأثير على الخلايا فإذا أخذت هذه الخلايا النباتية ووضعت في محلول ملحي مركز فأن ضغطه التنافذي اكبر من الضغط التنافذي للمحلول المتعادل لذلك يصبح ضغط الانتشار للماء الموجود في المحلول الملحي اقل من ضغط الانتشار للعصير الخلوي مما يسبب تحرك الماء من الفجوات في الخلية نحو المحلول الخارجي مارا" بالبروتوبلازم وجدار الخلية وكلما زاد مقدار الماء الخارج من الفجوات كلما صغر حجمها ونتيجة لصلابة جدار الخلية الذي يعطيها الشكل المميز سوف يتقلص البروتوبلازم مكونا" كتلة صغيرة في وسط الخلية تاركا" فراغ بينه وبين جدار الخلية مما يؤدي إلى دخول قسم من المحلول الخارجي من خلال جدار الخلية ليملئ الفراغ الذي تكون بين جدار الخلية والبروتوبلازم. وعندما تصبح مثل هذه الحالة فان البلزمة أصبحت كلية والخلية لا تعود إلى شكلها الطبيعي عند وضعها في الماء المقطر وتدعى هذه الحالة بالبلزمة الدائمية. ويعود سبب عدم استرجاع الخلية لحالتها الطبيعية أما بسبب إن المواد

المذابة في المحلول الخارجي لا تستطيع إن تدخل إلى السايتوبلازم بسرعة كافية مما يؤدي إلى قتل الخلايا ، أو إن هذه المواد لا تستطيع إن تدخل السايتوبلازم أطلاقا". لذلك فان قابلية الخلايا على استرجاع وضعها الطبيعي يحصل فقط عند حصول ظاهرة البلزمة المؤقتة. يوضح الشكل (14) تأثير بعض قيم الجهد المائي على حصول ظاهرة البلزمة .



شكل (13) كيفية حصول ظاهرة البلزمة في الخلية وقيم الجهد المائي لها ، عن Taiz and Zeiger (2006)

تجربة توضيح ظاهرة البلزمة باستعمال المجهر .

Explanation Plasmolysis Phenomenon.

المواد المطلوبة :

1- مجهر ضوئي . 2- شريحة زجاجية مع غطاء الشريحة. 3- ورق ترشيح.

4- جذور الشوندر طرية أو بشرة أوراق نبات الكوليوس Coleus أو أوراق نبات الالوديا الملونة Elodes.

5- محلول ملحي تركيزه مساوي إلى ضغط تنافذي مقداره 30 ضغط جوي (يتم تحضيره بإذابة 39.15 غرام من كلوريد الصوديوم NaCl في 1 لتر ماء مقطر).

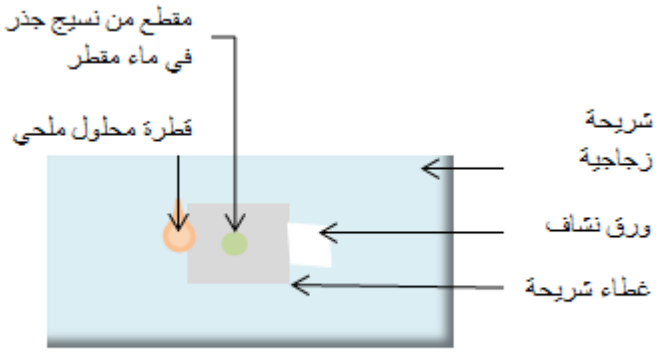
6- ماء مقطر. 7- شفرة قطع لعمل شرائح رقيقة.

طريقة العمل :

1- أعمل مقطع رقيق من جذر الشوندر ثم ضعه على شريحة زجاجية وضع عليها عدة قطرات من الماء المقطر. بعدها يتم وضع الشريحة الزجاجية ومقطع الجذر عليها على مسرح المجهر تحت العدسة ذات القوة الكبرى. وضح الصورة وأرسم كيفية ترتيب محتويات الخلايا خاصة الفجوات التي تحوي صبغة الانثوسيانين .

2- ضع عدة قطرات من المحلول الملحي على إحدى حواف غطاء الشريحة ثم ضع قطعة ورق ترشيح على الحافة المقابلة للغطاء بحيث تصبح حافة ورق الترشيح تحت حافة غطاء الشريحة حيث تقوم ورقة الترشيح بامتصاص الماء المقطر الموجود تحت الغطاء مما يؤدي إلى أحلال المحلول الملحي محله . ولتلافي سحب المحلول الملحي ترفع ورقة الترشيح قبل سحب المحلول الملحي وراقب حصول ظاهرة البلزمة للخلايا. بعد قليل أضف ماء مقطر وبنفس طريقة إضافة المحلول الملحي واستعمل ورق الترشيح لسحبه بأتجاه نموذج الجذر تحت غطاء الشريحة، وانظر من خلال المجهر ستلاحظ إسترجاع الخلايا لشكلها الأصلي شكل (14).

3- أرسم ما تشاهده وسجل ملاحظاتك واكتب تقرير التجربة وفسر نتائجك.

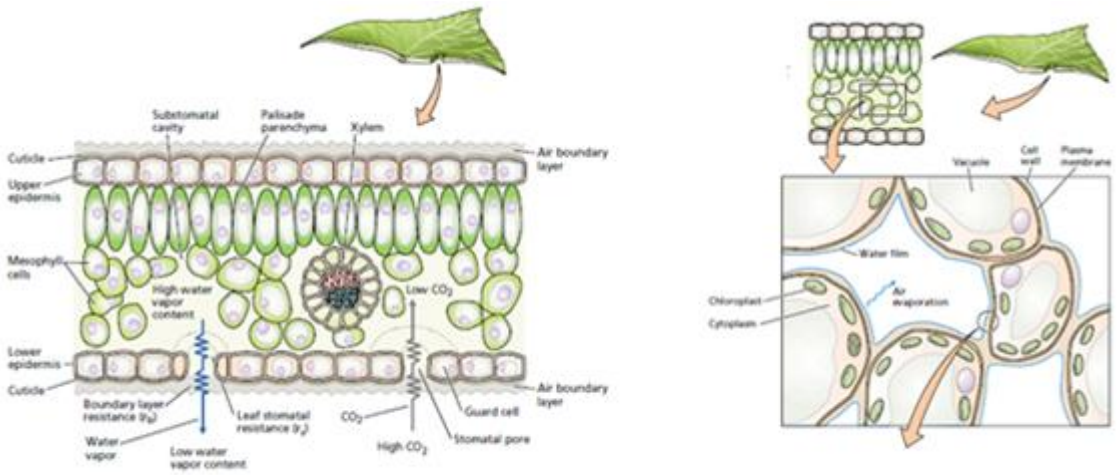


شكل (14) كيفية تحضير شريحة للفحص المجهري لظاهرة البلزمة .

الفصـل الثالث

النتـح The transpiration

هي عملية فقد الماء من النباتات بشكل بخار يخرج من فتحات تدعى الثغور Stomata التي تتخلل خلايا البشرة للورقة ، فقد تكون الثغور موجودة على سطح واحد من سطحي الورقة أو توجد على السطحين معا" ألا أن وجودها بنسبة اكبر على السطح السفلي للورقة. فبالإضافة إلى النتح الثغري Stomatal transpiration فان الماء يفقد أيضا" بشكل بخار من سطح الأوراق وسيقان النباتات العشبية من طبقة الكيوتكل يدعى بالنتح الكيوتكلي Cuticular transpiration ، كما يحصل النتح عن طريق العديسات Lenticular ويدعى بالنتح العديسي Lenticular transpiration. وعلى الرغم من أن طبقة الكيوتكل (الطبقة الشمعية) تمنع تبخر الماء من الخلايا ليستطيع النبات السيطرة على كمية ماءه ألا إنها تعتبر نفاذة الى حد ما لبخار الماء ، وكمية النتح عن طريق الكيوتين تزداد كلما ازدادت رقة هذه الطبقة. يوضح الشكل (15) مسار التبادل الغازي خلال نسيج الورقة .



شكل (15) مسار التبادل الغازي بين خلايا نسيج الورقة ، عن Taiz and Zeiger (2006)

التجارب العلمية :

1- أثبات ظاهرة النتح

تجربة أثبات ظاهرة النتح Demonstrate the phenomenon of transpiration

المواد المطلوبة :

1- نبات نامي في سندانة بحالة نمو نشط.

2- ناقوس زجاجي يستوعب حجم النبات مع السندانة.

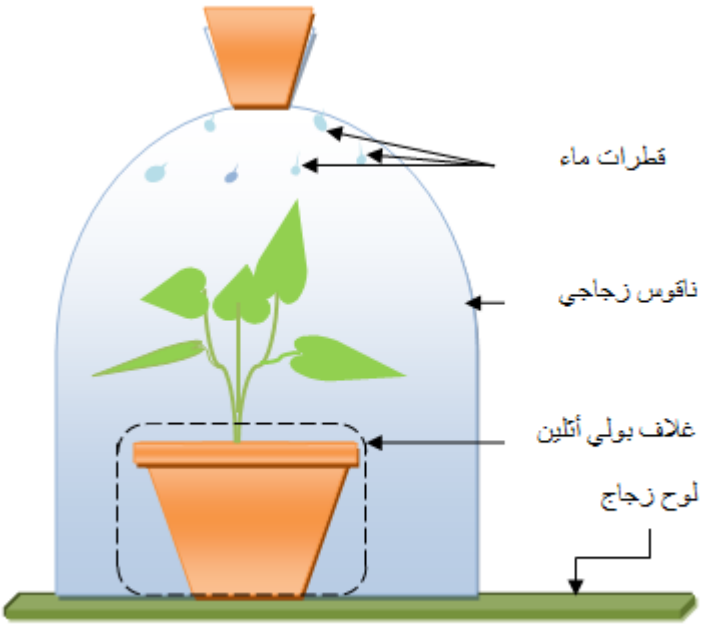
3- قطعة بولي أثيلين لتغليف السندانة لمنع التبخر منها.

4- لوح من الزجاج . أو لوح صقيل من خشب فورميكا.

5- دهان فازلين (شحم).

طريقة العمل :

يتم تغليف السندانة ويغطى سطح التربة بالبولي اثلين مع الإبقاء فقط على الجزء النباتي معرض للهواء وهذا سيمنع حصول تبخر من سطح السندانة أو من التربة بعدها توضع السندانة فوق السطح الصقيل (اللوح الزجاجي) ثم يغطى النبات والسندانة بالناقوس الزجاجي مع ملاحظة وضع الفازلين حول حافة الناقوس مع اللوح الزجاجي ، بعد فترة ساعة أو أكثر بقليل ستلاحظ تكون قطرات من الماء على السطح الداخلي للناقوس الزجاجي. أن قطرات الماء التي تكونت مصدرها النبات عن طريق النتح كما في شكل (16) .



شكل (16) أثبات ظاهرة النتح في النبات .

2 – تقدير أو قياس النتح

تستعمل طرق عدة لقياس النتح منها تعتمد على كمية بخار الماء المفقود من النبات أو تعتمد على التغير في منحنى الضغط أو تعتمد على كمية الماء التي يمتصها النبات وسنتعرف على كيفية تنفيذ بعض هذه الطرق.

تجربة تقدير النتح بطريقة جمع و وزن الماء المفقود من النبات بالنتح .

المواد المطلوبة :

1- ناقوس زجاجي ذو فتحتين متقابلتين تسمح بربط الناقوس بأنبوب زجاجي.

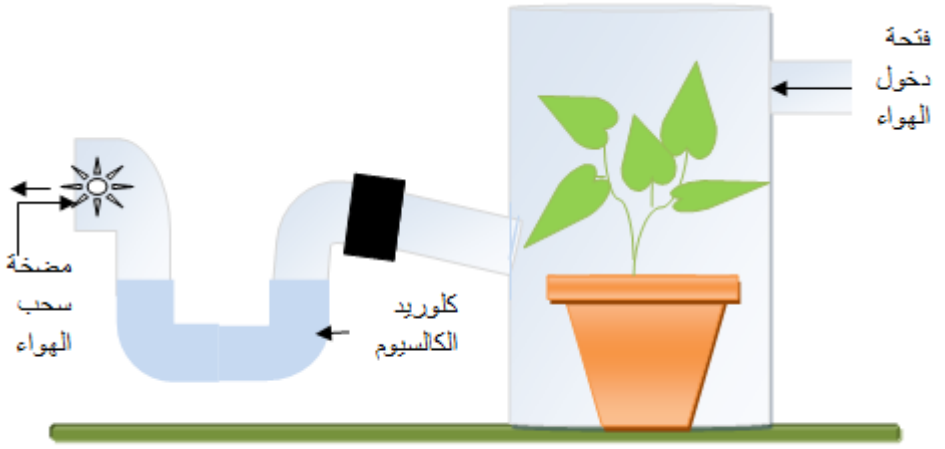
2- مضخة تفريغ .

3- أنبوبة زجاجية على شكل حرف U .
4- أنبوبة مطاطية للربط .
5- سندانة ينمو فيها نبات.
6- كلوريد الكالسيوم اللامائي .
7- لوح زجاجي.
8- دهان فازلين.

طريقة العمل :

1- يتم وضع النبات النامي في السندانه تحت الناقوس الزجاجي كما في الشكل (17) حيث يمكن ربط طرف الناقوس بالأنبوب الزجاجي الجانبي مع الأنبوبة الزجاجية على شكل حرف U الذي يوضع في داخله وزن محدد من كلوريد الكالسيوم اللامائي وتربط النهاية الثانية من الأنبوبة الزجاجية على مضخة ماصة فعندما تشتغل المضخة سيمر تيار هواء من الفتحة الجانبية الثانية للناقوس باتجاه النبات ويحمل معه بخار الماء الذي يطرحه النبات عن طريق النتح ثم يمر على كلوريد الكالسيوم اللامائي الذي يقوم بامتصاص الماء الموجود في الهواء. يحدد وقت معين للتجربة. يوقف الجهاز ويؤخذ وزن كلوريد الكالسيوم اللامائي.

2- تعاد التجربة بدون وضع نبات تحت الناقوس وبنفس الوقت الذي استغرقته التجربة السابقة مع ملاحظة وضع كلوريد الكالسيوم اللامائي جديد وذلك لحساب كمية الماء الموجود في الهواء. وبإيجاد الفرق بين وزن كلوريد الكالسيوم المائي للتجربة الأولى وكلوريد الكالسيوم المائي بعد أعادة التجربة ، يمكن معرفة كمية الماء الناتجة من عملية النتح.



شكل (17) كيفية قياس النتح عن طريق جمع الماء المفقود من النبات .

تجربة تقدير النتح بحساب التغير في الضغط

يفقد النبات الماء بعملية النتح التي تُنجز في أعضاءه الفعالة ، لذلك وظائف الأعضاء وشكلها يتأثر بالبيئة المحيطة . فعندما ترتفع درجة الحرارة تدفع النبات الى فقد المزيد من الماء الى

المحيط الخارجي وهذا سيساعد على رفع الماء وما يحمله من مغذيات من منطقة الجذر ، أذ يتسبب النتح في خلق تدرج في الضغط الداخلي للنبات يؤدي الى رفع الماء الى أعلى النبات .

المواد المطلوبة :

1- غصن من نبات مع الأوراق (بطول 25 سم تقريباً) .

2- حامل حديدي عدد 2 مع ماسكة .

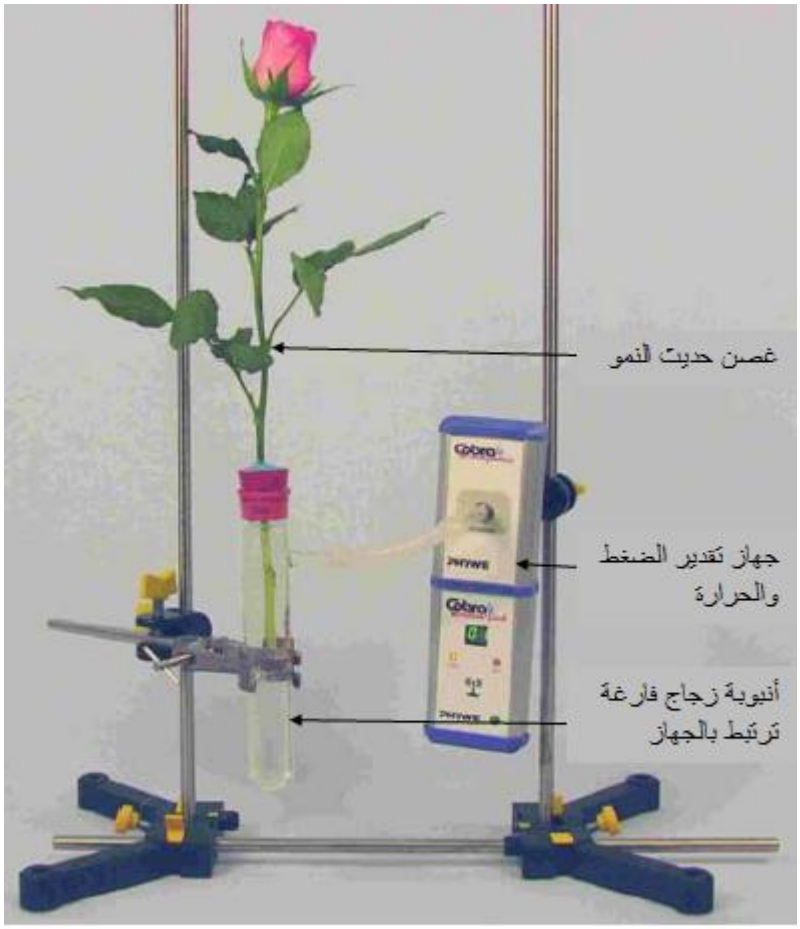
3- أنبوبة زجاجية ذات فتحة جانبية مع سدادة مطاطية .

4- جهاز لقياس الضغط ودرجة الحرارة .

5- أنبوب مطاطي للتوصيل بين الأنبوبة الزجاجية والجهاز .

طريقة العمل :

قم بتجهيز المواد المطلوبة لتنفيذ التجربة وأربطها كما في الشكل (18) ثم ثبت قيم الضغط ودرجة الحرارة وراقب التجربة وثبت قيم قراءة الضغط ودرجة الحرارة كل 10 دقائق لمدة ساعة . أرسم منحنى الضغط للقيم التي حصلت عليها وناقش النتائج .



شكل (18) تقدير النتح عن طريق تقدير التغير في جهد الضغط ،عن TESS

3- تقدير نسبة النتح إلى الامتصاص To find out transpiration / absorption (T / A)

تجربة تقدير نسبة النتح / الامتصاص

المواد المطلوبة :

1- قنينة زجاجية ذو فتحة جانبية يمكن إن تربط بها أنبوبة زجاجية مدرجة. 2 – ماء.

3- نبات ذو مجموع خضري ومجموع جذري متوسط. 4- زيت.

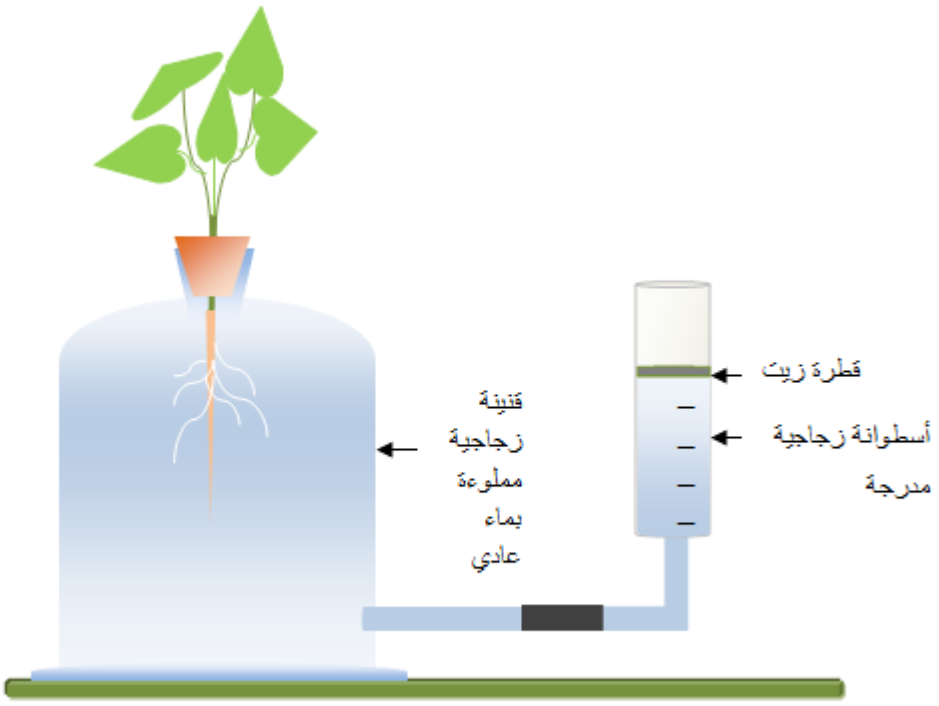
5- أنبوبة زجاجية مدرجة مع وصلة ربط مطاطية. 6- سدادة فلينية .

7-حامل حديدي مع ماسكات.

طريقة العمل :

يتم ملئ القنينة الزجاجية بالماء ويتم تثبيت النبات داخل القنينة الزجاجية بوضع السدادة الفلينية أو المطاطية بحيث تسمح لساق النبات أن يكون بوضع قائم مع ربط الأنبوبة الزجاجية المدرجة وتوضع قطرة زيت في نهاية مستوى الماء في الأنبوبة الزجاجية ويحدد مستواها على الأنبوبة. يؤخذ وزن الجهاز بالكامل. وبعد زمن ساعتين أو أكثر سيلاحظ انخفاض مستوى الماء في

الأنبوبة المدرجة وهنا يجب إن تكون كمية الماء المفقودة بالنتح تعادل كمية الماء الممتصة من قبل جذور النبات ألا أن هذا ليس دائما". حيث يتم إعادة وزن الجهاز لإيجاد فرق الوزن شكل(19).



شكل (19) تقدير نسبة النتح الى الأمتصاص .

4- النتح الثغري والنتح الكيوتكلي Cuticular and stomatal transpiration

تجربة مقارنة بين النتح من الثغور والنتح من طبقة الكيوتكل.

Compare cuticular and stomatal transpiration.

المواد المطلوبة :

1- حامل حديدي عدد 2 .
2- خيط ربط .
3- أوراق نبات متشابهة المساحة السطحية والعمر تقريبا".
4- دهان فازلين .

طريقة العمل :

تؤخذ 4 أوراق من نبات معين على إن يكون ذات أنصال متساوية تقريبا" في المساحة والشكل والعمر ، تربط من أعناقها وتعلق بخيط يوصل بين الحاملين الحديدين وتعامل كالآتي:

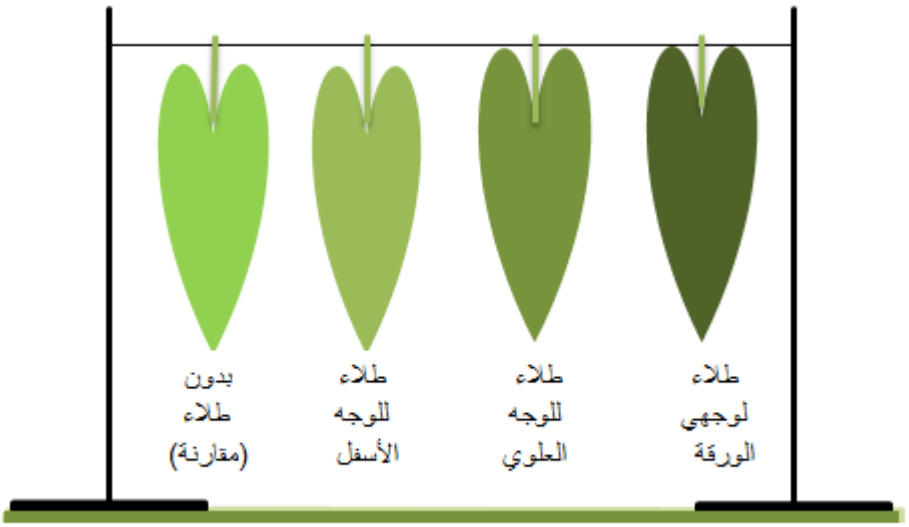
أ- الورقة الأولى تترك بدون معاملة للمقارنة بها.

ب- الورقة الثانية يتم طلاء سطحها العلوي فقط بدهان الفازلين (بشكل عام السطح العلوي للورقة قليل الثغور أو لا يحوي ثغور).

ج- الورقة الثالثة يتم طلاء سطحها السفلي بدهان الفازلين.

د- الورقة الرابعة يتم طلاء سطحي الورقة العلوي والسفلي بدهان الفازلين شكل(20).

تترك الأوراق في جو المختبر لمدة ساعة إلى ساعتين ثم سجل ملاحظاتك في أي من الأوراق بدأ الذبول يظهر، اتركها إلى اليوم التالي ثم سجل الملاحظات، اكتب التقرير وناقش النتائج .



شكل (20) تقدير الأختلاف في معدل النتح بين سطحي نصل الورقة .

الفصـل الرابـع

الإدمـاع The guttation

الإدماع هي ظاهرة خروج قطرات ماء تتكون على حافة أوراق النباتات التي تنمو تحت ظروف تربة رطبة ودافئة ومناخ مرتفع الرطوبة ، وتحصل بعد رَي النباتات رية غزيرة كما يزداد ظهور القطرات المائية (الإدماع) عندما تكون سرعة الامتصاص اكبر من سرعة النتح . حيث يزداد الماء في أوعية الخشب كلما زاد الامتصاص وهذا سيولد ضغط داخل أوعية الخشب مسببا" دفع الماء إلى ابعد نقطة في عروق الورقة وعندما يصل الضغط وكمية الماء إلى الحد الذي يفوق قدرة هذه الأوعية يجعله يندفع إلى خارج الورقة عبر تراكيب تسمى الثغور المائية (Hydathodes) التي توجد في قمم أو نهايات عروق الورقة والتي تعتبر منفذا" جيدا" لخروج الماء وتقليل ضغطه الواقع على الأوعية في الورقة. فبالإضافة إلى خروج الماء فانه سيحمل معه عبر مروره في أوعية الخشب وبعض خلايا الورقة كثير من المواد التي تحويها الخلايا كالعناصر الغذائية الضرورية والسكريات المختلفة إضافة إلى عدد من الفيتامينات والأحماض العضوية. لذلك يلاحظ ترسب مواد على حافات الأوراق بعد تبخر قطرات ماء الإدماع والتي قد يسبب تجمعها على الأوراق ظهور بعض الأضرار على تلك الأوراق. كما أن استمرار حصول ظاهرة الإدماع يتسبب في فقد كثير من العناصر الغذائية المعدنية الضرورية للنبات مما يؤدي إلى ضعف نموه مقارنة بالنمو فيما لو لم تفقد هذه المغذيات من النبات . ويظهر الشكل (21) صورة لظاهرة الإدماع في نبات الشليك .

Guttation in leaves from strawberry (*Fragaria grandiflora*). In the early morning, leaves secrete water

شكل (21) ظاهرة الأدماع في نبات الشليك ، عن Taiz and Zeiger (2006)

ولإثبات ظاهرة الأدماع مختبرياً تجرى التجربة التالية.

تجربة أثبات حصول ظاهرة الإدماع .

المواد المطلوبة :

1- نبات في سندانه ذات أوراق عريضة ورقيقة. 2- ناقوس زجاجي ذات فوهة عريضة.

3- جهاز مكسر ضوئي يدوي Hand refractometer لقياس المواد الصلبة الذائبة. 4- لوح زجاجي.

5- سدادة مطاطية أو فلينية. 6- جهاز قياس النسبة المئوية للرطوبة Hygrometer.

7- قطعة بولي اثلين لتغليف السندانه وسطح التربة لها. 8 - ماء.

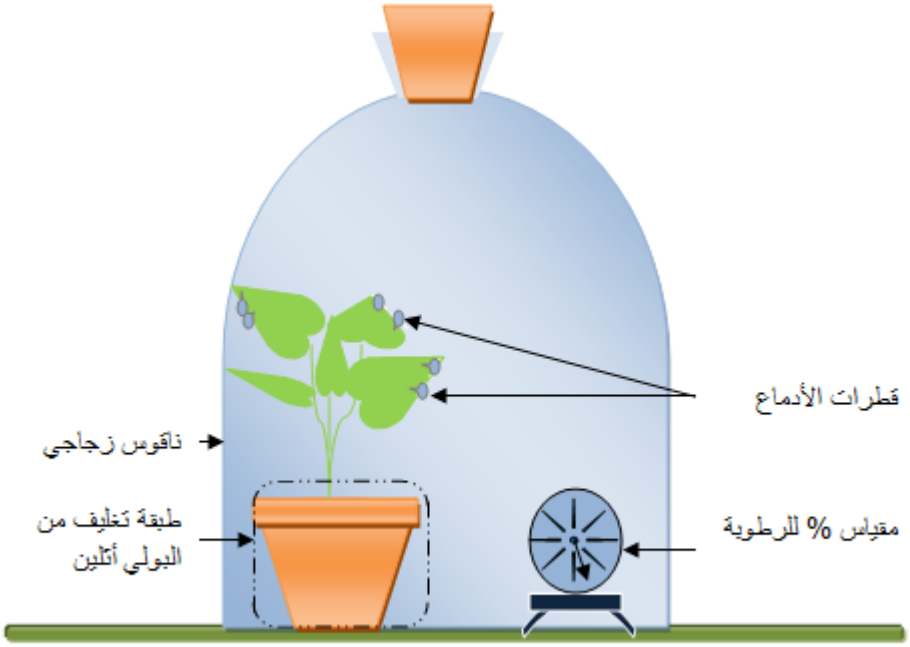
9- عدسة يدوية مكبرة. 10- محقنه طبية صغيرة (2 مللتر).

طريقة العمل :

1- يتم وضع لوح الزجاج فوق منضدة مستوية وتوضع فوق السندانه التي ينمو فيها النبات مع مراعاة إن تكون قد أضيف لها الماء وتغلف السندانه بقطعة البولي اثلين لكي لا تمتص الرطوبة الداخلية. ويتم مسح السطح الداخلي للناقوس بقطعة قماش رطبة لتوفير رطوبة حول النبات. كما

يوضع جهاز قياس النسبة المئوية للرطوبة بجانب السندانه ويوضع فوقها الناقوس الزجاجي ، فبعد ساعات قليلة يلاحظ ظهور قطرات صغيرة من الماء حول حافات الورقة شكل(20).

2 – يرفع الناقوس وبشيء من الحذر والدقة يسحب بالمحقنه بعض القطرات ثم توضع قطرة من هذا الماء على العدسة الشيئية لجهاز المكسر الضوئي وينظر من خلال العدسة العينية باتجاه مصدر ضوء سيلاحظ تدرج وفيه مؤشر يحدد قراءة معينة هي تمثل قيمة المواد الصلبة الذائبة الكلية كنسبة مئوية والتي معظمها مواد سكرية إضافة إلى حوامض عضوية حملها الماء معه من داخل النبات.



شكل (22) أثبات ظاهرة الأدماع .

البـــاب الرابـع

إمتصاص الماء والعناصر وصعودها إلى الأجزاء الهوائية وانتقال الذائبات.

Water absorption, water ascent and solutes translocation.

يختص علم تغذية النبات Plant nutrition بدراسة كل الفعاليات التي لها علاقة بكيفية حصول النبات على احتياجاته من ماء وعناصر غذائية مختلفة والكيفية التي يتم بها تجهيز وامتصاص المركبات الكيميائية التي يحتاجها النبات لنموه وفعالياته الحيوية والطرق التي تسلكها هذه المواد لتصل للمواقع التي يتطلبها الفعل الحيوي داخل أنسجة النبات. من ذلك يظهر تداخل العلاقة مع علم فسلجة النبات Plant physiology الذي يهتم بالوظائف الحيوية أو العمليات الايضية Metabolic processes التي تجهز الطاقة للبناء وتتابع سير المركبات ومواقع تواجدها بصورة مؤقتة قبل انتقالها إلى المكان الدائم الذي تقوم فيه بوظائفها الحيوية.

الفصـل الأول

الامتصاص Absorption

أن معظم امتصاص الماء يحصل في المنطقة القريبة من طرف الجذر (منطقة الشعيرات الجذرية) ويجري الامتصاص وفق الآلية الازموزية بمعنى أن الماء يتحرك من منطقة الجهد المائي العالي في محلول التربة إلى منطقة الجهد المائي المنخفض في خلايا الجذر ، كما يحصل امتصاص قليل (منطقة القمة النامية) حيث الماء في هذه المنطقة يواجه مقاومة شديدة نتيجة لكثافة البروتوبلازم العالية ، ويحصل أيضا" امتصاص قليل من قبل خلايا الجذر في المنطقة مكتملة النمو نتيجة لترسب مواد السوبرين Suberin والكيوتين Cutin على البشرة حيث تتكون طبقة بشرة خارجية Exodermis كما يزداد ترسيب شريط كاسبر Casparian strip في جدر خلايا البشرة الداخلية أو الاندوسبيرم مما يؤدي إلى منع نفاذ الماء. أن التدرج في الجهد المائي في هذا النظام تنشأ نتيجة لنوعين من التأثيرات وهما :

تأثير النتح الذي ينتج لقوى ناشئة في الجو أو في أنسجة الورقة فعندما يفقد الماء بعملية النتح لابد من تعويضه من خلال امتصاصه عن طريق الجذر.

وتأثير تراكم الذائبات الذي يحدث تدرج في الجهد المائي بين محلول التربة وأنسجة الجذر نتيجة لامتصاص الايونات بالامتصاص النشط مما يؤدي إلى خفض في الجهد الازموزي والجهد المائي في داخل النسيج النباتي وبالتالي امتصاص الماء ونشوء ضغط يدفع الماء والايونات إلى أعلى وهذا ما يسمى بالضغط الجذري Root pressure وما ذكرنا سابقا" تعتبر الشعيرات الجذرية

أكثر أجزاء المجموع الجذري فعالية (شكل ، 23) فالماء ينفذ إلى خلية الشعيرة الجذرية أولا اعتمادا على مقدار الفرق في عجز ضغط الانتشار ثم ينتقل إلى الخلايا المجاورة وهكذا يستمر وصولا إلى مركز الجذر عبر خلايا المرور Passage cells كما في شكل (24) مما سبق يتضح أن امتصاص الماء في منطقة الجذر يكون بالآلية الازموزية بينما يتم امتصاص الذائبات بالآلية النشطة. أن دخول الماء إلى داخل خلايا الجذر سيولد ضغطا" يعرف بالضغط الجذري Root pressure يمكن أثباته بالتجربة .

أولا : تجربة تحضير شريحة لمقاطع عرضية لنسيج جذر تظهر فيه الشعيرات الجذرية .

المواد المطلوبة :

1- نبات خيار (Cucumber) *Cucumis sativus* اونباتات البصل (Onion) *Alium cepa* تم زراعتها قبل ثلاث اسابيع بحيث تكونت لها مجموعة جذور كثيفة .

2 - شريحة زجاجية مع غطاء شريحة . 3 - عدة تشريح .

طريقة العمل :

1 - أحصل على مجموعة جذور ككثيفة من جذور النبات بأستعمال تيار ماء في قلع النبات

2 - أغسل الجذور بالماء المقطر .

3 -خذ جزء من من جذر واعمل له مقاطع من مواقع مختلفة ((قمة الجذر , المنطقة الوسطية التي تحتوي الشعيرات الجذرية , المنطقة الناضجة القريبة من الساق))

4- حضر ثلاث شرائح زجاجية وضع على كل شريحة قطرة ماء .

5- أنقل بواسطة الملقط مقطع من قمة الجذر وضعها على الشريحة الأولى وأنقل مقطع من المنطقة الوسطية وضعها على الشريحة الثانية ثم أنقل مقطع من المنطقة الناضجة وضعه على الشريحة الثالثة .

6 - أكمل العمل بوضع غطاء شريحة على كل من النماذج الثلاث

7- ضع الشرائح الواحدة تلو الاخرى علىمسرح المجهر وافحص..... **ستلاحظ الاتي :**

أ - في النموذج الذي أخذ من القمة النامية للجذر تظهر قلنسوة واضحة جدا .

ب- في النموذج الذي أخذ من المنطقة الوسطية تظهر الشعيرات رقيقة وشفافة وفعالة.

ج- في النوذج الذي أخذ من المنطقة الناضجة تظهر شعيرات بلون داكن بني غير فعالة.

ثانيا: تجربة أثبات الضغط الجذري. Demonstrate of root pressure.

المواد المطلوبة :

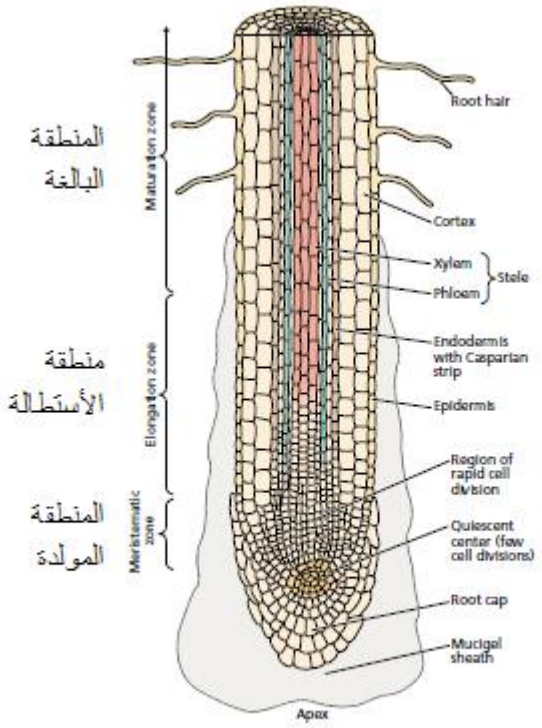
1- نبات نامي في سندانه تم ريها بشكل جيد.

2- حامل حديدي مع ماسكة.

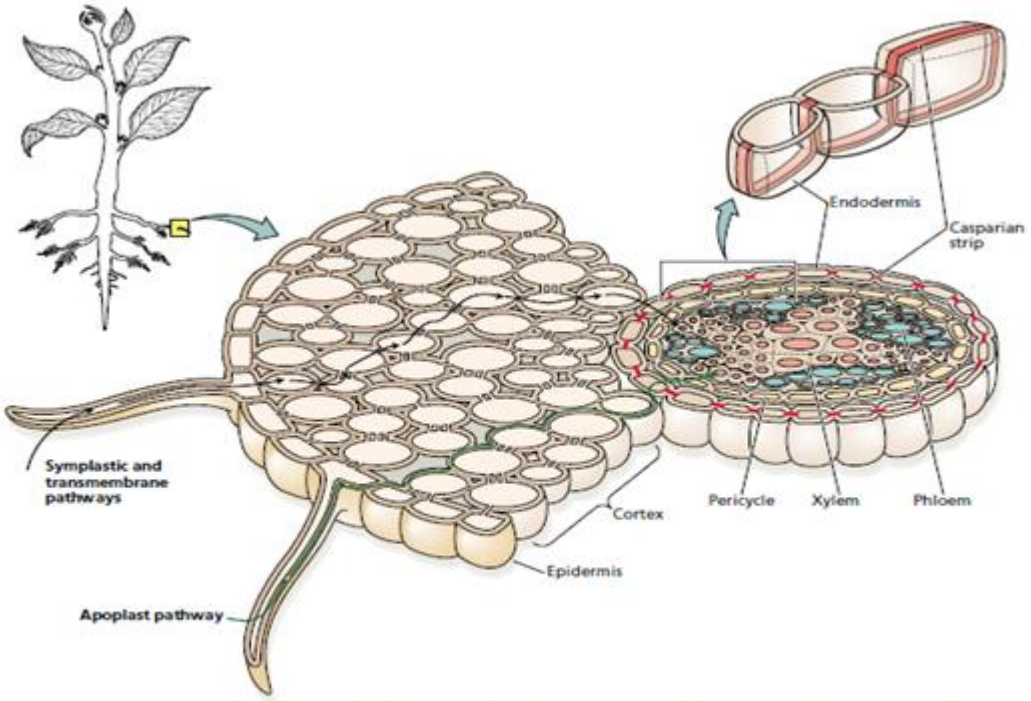
3- أنبوب مطاطي ضيق بطول 5 سم وقطر2 ملم.

4- شفره قطع أو مشرط ، خيط ربط وشمع.

5- أنبوب زجاجي شعري قطره الداخلي1- 2 ملم بطول 90 سم.



شكل (23) مقطع طولي للجذر ، عن Taiz and Zeiger (2006)



شكل (24) مقطع عرضي للجذر يوضح حركة الماء والذائبات من الشعيرة الجذرية نحو مركز الجذر، عن Taiz and Zeiger (2006)

طريقة العمل :

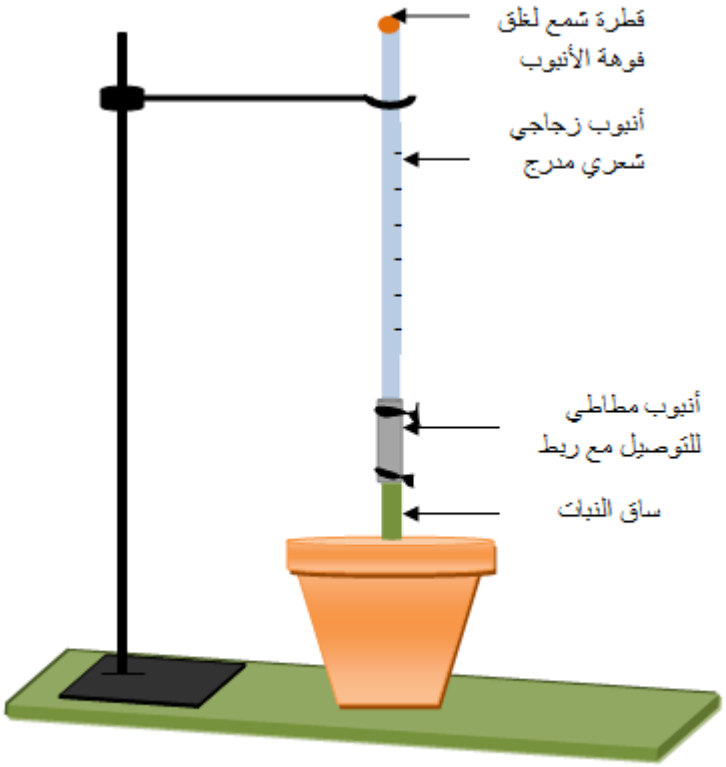
1- يتم ربط الأنبوب المطاطي في احد نهايتي الأنبوب الزجاجي الشعري (طوله 90سم وقطره 1 –2 ملم) مع مراعاة إن يبقى بحدود 2 سم من الأنبوب المطاطي للتثبيت على النبات.

2- باستعمال الشفرة يقطع ساق النبات في السندانه بارتفاع 5 سم فوق سطح التربة.

3- إدخل في النهاية الحرة للأنبوب المطاطي ساق النبات بحيث يتلامس نهاية الأنبوب الزجاجي الشعري مع قمة الساق المقطوعة. ويتم تثبيت الأنبوب الزجاجي بشكل عمودي من خلال ربطه إلى الحامل الحديدي بالماسكة. مع ملاحظة ربط مناطق اتصال الأنبوبة المطاطي بساق النبات والأنبوبة الشعرية بخيط محكم الربط.

4- يتم وضع قليل من الماء داخل الأنبوب الزجاجي الشعري وتغلق الفوهة العليا بقطرة من الشمع شكل (25).

5 – يتم قياس حجم الهواء الموجود في الأنبوبة الشعرية وتثبت علامة على مستوى الماء فيها. تترك لمدة 24 –48 ساعة وتسجل ملاحظات على مستوى الماء في الأنبوب الشعري يوميا". يمكن من خلال تناقص حجم الهواء الدلالة على أن ارتفاع عمود الماء سيولد ضغطا" لتقليص الهواء وانضغاطه في حيز محدود.



شكل (25) أثبات الضغط الجذري .

الفصل الثاني

صعود الماء في نسيج الخشب Ascent of water in the xylem tissue

بعد إن يتم امتصاص الماء بواسطة خلايا الشعيرات الجذرية Root hair وخلايا البشرة Epidermis القريبة من منطقة الشعيرات الجذرية يتحرك الماء من هذه الخلايا باتجاه مركز الجذر فينتقل إلى خلايا القشرة Cortex ثم إلى خلايا البشرة الداخلية Endodermis ويمر الماء من خلال خلايا المرور Passage cell التي تتخلل بين الخلايا الحاوية على شريط كاسبر Casparian strip حيث يدخل خلايا الدائرة المحيطية Pericycle بعدها يصل خلايا الخشب Xylem شكل (24) حيث يقوم نسيج الخشب بنقل الماء من الجذر إلى الورقة ويتكون هذا النسيج من أنواع متباينة من الأنسجة الحية وغير الحية والتي تشمل :

1- العناصر القصبية Tracheary elements والتي تتضمن :

أ- الأوعية الخشبية Xylem vessels . ب- القصبيات Tracheids

وهي الأجزاء التي تقوم بالنقل الرئيسي للماء وتتميز بجدرها المتثخنة بمادة اللكنين مما يعطيها مقاومة للنتح.

2- ألياف الخشب Xylem fibers تتميز هذه الألياف بأنها خلايا طولية مستدقة النهاية ومثخنة باللكنين. وقد يمر قسم من الماء من خلالها.

3- بارنكايما الخشب Xylem parenchyma وهي خلايا حية تساعد على الحركة الجانبية للماء والمواد الذائبة. ومن الأدلة التي تثبت مسؤولية انسجه الخشب عن نقل الماء يمكن أجراء التجارب الآتية:

التجارب العملية :

1- تجربة أثبات أن عناصر الخشب تنقل الماء في النبات.

Demonstrate that xylem elements transport water in plant.

وتسمى تجربة الصبغات Dye experiment .

المواد المطلوبة :

1- بادرات لنبات نامية في السندانه.
2- بيكر حجم 250 أو 300 أو 400 مللتر.
3- محلول صبغة Eosin.
4- ماء مقطر.
5- عدسة شيئية مكبرة يدوية.

طريقة العمل :

أولا- تحضير محلول صبغة Eosin 1%.

يؤخذ وزن 1 غرام من صبغة الـ Eosin تذاب في 100 سم^3 ماء مقطر ويحفظ في قنينة مغلقة للاستعمال.

ثانيا- يتم قلع بادرات النبات النامية في سندانه باستعمال تيار ماء للحصول على جذور سليمة وتغسل جيدا" ثم توضع داخل البيكر بشكل قائم ثم أضف حجم50-70سم^3 من محلول صبغة الـ Eosin إلى البيكر بحيث تغمر جذور البادرات. اترك البادرات على هذا الوضع لبعض الوقت 2-4 ساعات لكي تمتص الماء.

1- خذ عينة من جذور البادرات وافحصها بالعدسة اليدوية ولاحظ تلونها .

2- خذ عينة من جذور البادرات واعمل مقاطع عرضية وطولية منها وافحص تحت المجهر فستلاحظ أن منطقة طرف الجذر اصطبغ جميع أنسجتها. بينما يلاحظ في المقاطع العرضية للجذر أو الساق أن منطقة الاسطوانة الوعائية يتلون فيها عناصر الأوعية والقصبات مما يدل على أن تلك العناصر هي التي قامت بنقل الماء من الجذر إلى الساق ثم إلى الأوراق.

2- تجربة أثبات دور نسيج الخشب في نقل الماء إلى الأوراق .

Demonstrate of xylem tissue role on water transport to leaves experiment .

وتسمى تجربة التحليق Ringing or Girdling experiment

المواد المطلوبة :

1- نباتين ينمو كل نبات في سندانه. 2- شفرة قطع.

طريقة العمل :

1- على ساق النبات الأول وعند ارتفاع 10سم من سطح التربة تعمل حلقة دائرية بعرض 1 سم حول الساق باستعمال الشفرة على إن يتم قطع طبقة اللحاء فقط دون الضغط الشديد لكي لا يتم قطع نسيج الخشب ثم تزال حلقة اللحاء من حول الساق.

2- على ساق النبات الثاني وبنفس الأسلوب للعمل مع النبات الأول تزال حلقة اللحاء ثم يتم قطع جزء من نسيج الخشب من إحدى الجهات. يسمح للنباتين بالنمو لفترة زمنية قصيرة 1-2 ساعة سنلاحظ أن الأوراق في النبات الأول لم تتأثر بينما الأوراق للنبات الثاني تبدأ بالذبول وتكون الأوراق الواقعة فوق المنطقة التي قطع نسيج الخشب فيها أكثر تأثرا" من الجهة البعيدة. إن عدم موت الأوراق يعود إلى وجود حركة جانبية للماء في الخشب وبشكل بسيط.

3- تجربة أثبات أن صعود الماء يحصل خلال نسيج الخشب.

Demonstrate that ascent of water take place by xylem tissue.

المواد المطلوبة :

1- نبات ينمو في سندانه. 2- شفرة قطع. 3- دهان فازلين .

طريقة العمل :

1- باستعمال شفرة القطع أو سكينة تطعيم يتم عمل حز في طبقة اللحاء على شكل حلقة حول الساق الرئيسي للنبات النامي في السندانه ويكون هذا الحز على ارتفاع عدة سنتيمترات ويكون عرض الحلقة بحدود 1 سم (شكل ، 26) مع مراعاة عدم الإضرار بالخشب.

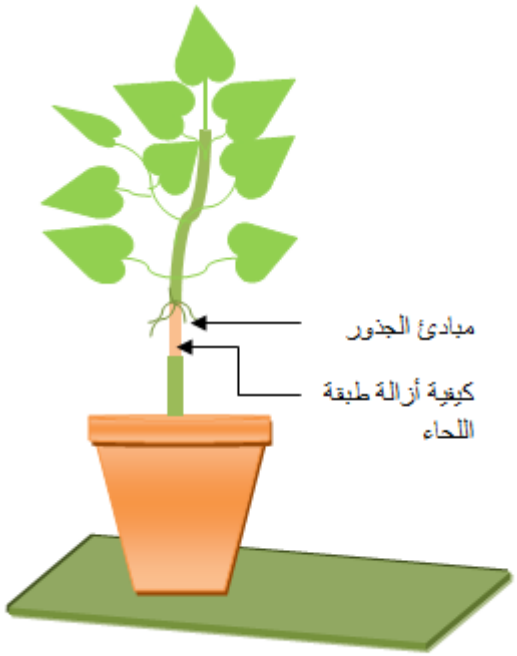
2- يتم رفع طبقة اللحاء للحلقة التي تم قطعها من حول الساق ويغطى موقعها بدهن الفازلين لحمايتها من المؤثرات الخارجية.

3- يترك النبات لعدة أيام. فسيلاحظ الآتي:

أ - استمرار نمو النبات وهذا معناه أن تجهيز النبات مستمر باحتياجاته من الماء.

ب - يلاحظ بعد فترة زمنية معينة تكون مبادئ للجذور تظهر فوق منطقة الحلقة المزالة لبعض الأنواع النباتية.

ج- يحاول النبات إدامة حياته فالجذور تحتاج للمواد الغذائية المصنعة في الأوراق تتراكم فوق منطقة القطع لأنها لا تستطيع الوصول إلى الجذور بسبب الحلقة المزالة مما يشجع تكون جذور جديدة لكي يبقى النبات على قيد الحياة.



شكل (26) أثبات أن صعود العصارة يتم خلال الخشب .

الفصـل الثالـث

النقل اللحائي Phloem translocation

(نزول الذائبات والمواد المصنعة)

يضم نسيج اللحاء الأنابيب المنخلية Sieve tubes والخلايا المرافقة Companion cells والبرنكايما Parenchyma والألياف Fibers إضافة إلى الخلايا الصخرية Sclereides ، وتتميز عناصر اللحاء بميزات فريدة فهي تفتقد للعديد من التراكيب التي توجد بشكل طبيعي في الخلايا الحية بما فيها الخلايا المرستمية Merstematic cells التي تكونت منها الأنابيب المنخلية والتي تفتقد للنواة وغشاء الفجوة وجهاز كولجي والرايبوسومات والخيوط الدقيقة Microfilaments والانيبيبات الدقيقة Microtubules لكنها تحتوي على بعض العضيات الأخرى المحورة مثل المايتوكوندريا والبلاستيدات والشبكة الاندوبلازمية الملساء ويصبح فيها السايتوبلازم والفجوة نظاما" واحدا" ، كما تصبح الفتحات في الجدر الفاصلة بين الأنابيب المنخلية بشكل صفيحة منخلية Sieve plate كما توجد فتحات في الجدر الجانبية للأنبوب المنخلي والتي تم طمرها عند اكتمال النمو بمادة الكالوس Callose وهي مادة عديدة التسكر يتم بنائها بمساعدة إنزيم Callose synthase ولإثبات دور اللحاء في نقل المواد المصنعة يتم أجراء التجارب الآتية:

التجارب العملية

1- تجربة عمل حلقة أو حزام حول ساق النبات . Ringing or girdling experiment

لأثبات نقل نسيج اللحاء للذائبات والمواد المصنعة (النسغ النازل) من الأوراق إلى الجذور.

المواد المطلوبة :

1- شتلات لشجيرات أو أشجار تنمو في سنادين أو في ارض المشتل.

2- شفرة قطع أو سكين تطعيم.

3- شريط قياس قماشي أو قدمه Verner.

طريقة العمل :

1- على ساق شتله نامية بشكل جيد وعلى ارتفاع مناسب (من 20 –50سم) اعمل قطع حول الساق وفقط في طبقة اللحاء مستعملا" شفرة قطع أو سكينة تطعيم حادة ، ثم اعمل قطع آخر حول الساق يبعد عن القطع الأول 1 سم إلى الأعلى أو إلى الأسفل منه بحيث تتكون لديك حلقة حول الساق ثم قم بإزالة هذه الحلقة لطبقة اللحاء من حول الساق.

2- قم بقياس قطر الساق فوق منطقة الحلقة المزالة بشكل دقيق وثبت القيمة لديك. تترك النبتة على هذا الحال حتى الأسبوع القادم.

3- ستلاحظ انتفاخ النسيج للمنطقة فوق القطع نتيجة تراكم المواد القادمة من المجموع الخضري. قم بقياس القطر ثانية وثبت قطر الساق واوجد الفرق بين القيمتين.

2- تجربة أثبات نقل نسيج اللحاء للمواد المصنعة من الأوراق إلى الجذور.

Demonstrate that phloem tissue transport food from leaves to roots.

المواد المطلوبة :

1- شتلات لشجيرات أو أشجار فاكهة أو زينة. 2- شفرة قطع أو سكين تطعيم.

3- قطارة ماصة. 4- مكسر ضوئي Hand refrectometer .

طريقة العمل :

1- اعمل قطع في طبقة اللحاء حول ساق الشتلة باستعمال الشفرة وقم بإزالة حلقة من اللحاء بعرض 0.5 سم ثم أجعل حافة طبقة اللحاء العليا ترتفع عن طبقة الخشب للساق وعند تجمع قطرة من النسغ النازل أعمل على سحبها بالقطارة الماصة.

2- قم بتحضير جهاز المكسر الضوئي بغسله بالماء المقطر وتخليصه من الماء باستعمال ورق النشاف ثم ضع القطرة التي تم الحصول عليها من النسغ النازل على العدسة الشيئية وأغلقها وانظر باتجاه الضوء وسجل القراءة التي تشاهدها.

3- أعد غسل الجهاز واستبدل قطرة النسغ النازل بقطرة ماء مقطر وثبت القراءة. ومرة أخرى باستعمال ماء الإسالة وثبت القراءة ، اكتب التقرير وفسر النتائج.

أن المركب الأساسي الذي تصنعه الأوراق هو سكر الكلوكوز والذي ينقل إلى جميع أجزاء النبات ليؤدي دوره في كل موقع حسب الحاجة له في ذلك الموقع وان جهاز المكسر الضوئي مصمم لقياس تركيز السكر في المحاليل. وللتأكد من هذه التجربة يمكن اخذ عينة ثانية من النسغ النازل وأجراء اختبار فحص المواد السكرية الذي تمت دراسته.

الفصل الرابع

الكشف عن العناصر المغذية للنبات

تتكون مادة النبات من جزئين اساسيين هما

1- الماء الذي يشكل بحدود 80 – 87%

2- المادة الجافة التي تشكل حوالي 15% وهذه المادة تتكون من جزئين هما

أ – الجزء العضوي Organic Composition يشكل نسبة 90% من المادة الجافة وتتكون من عناصر الكاربون والهيدروجين والاوكسجين .

ب – الجزء المعدني Mineral Composition يشكل نسبة 10% بمعنى انه يكون بحدود 1.5% من الوزن الطري الذي يمثل العناصر الكبرى (عدا الكاربون والهيدروجين والاوكسجين) والعناصر الصغرى والنادرة , وبهذا يتضح ان العادن لاتشكل الا جزء ضئيل من مادة النبات . وللكشف عن جميع المغذيات في مادة النبات غالبا ماتعتمد المادة الجافة الا ان ذلك لا يعني عدم امكانية اعتماد المستخلص النباتي لاجراء مثل هذه الكشوفات وهناك اكثر من طريقة يمكن من خلالها الاستدلال والكشف عن وجود العنصر المغذي في مستخلص النبات أو رصد حركة ذلك العنصر في العضو النباتي الذي يتواجد فيه . وسندرس هنا أبسط طريقتين هما :

I- الطريقة الكيميائية : حيث تستخدم المحاليل والمواد الكيميائية لتكوين معقدات مع أيونات العنصر أو تترسب أكاسيدها بهيئة لون خاص يميز ذلك العنصر , وسنوضح تسلسل خطوات ومتطلبات تنفيذ تجارب الكشف عن بعض العناصر وهي :

أولا- تحضير المحاليل والمواد الكيمياوية

1 – محلول مولبدات الامونيوم في حامض الكبريتيك $((NH_4)_4MoO_7.4H_2O)$

ويتم تحضيره وفق الاتي :

أ – أذب 12.5غرام من مولبدات الامونيوم في 100 مل ماء مقطر مع التسخين الى درجة 60 م° بأستعمال حمام مائي لتسهيل ذوبان المولبدات .

ب – خفف 135 مل من حامض الكبريتيك المركز . H_2SO_4 Conc الى 375 مل بالماء المقطر . وبعد ان يتم تبريد المحلولين اضف محلول مولبدات الامونيوم تدريجيا الى المحلول المخفف للحامض واكمل الحجم بالماء المقطر الى حد حجم 500 مل .

2- محلول أوكزالات الامونيوم 4% Ammonium oxalate

خذ وزن 4 غرام من أوكزالات الامونيوم وأذبها في 80 مل ماء مقطر وبعد تمام الذوبان أكمل الحجم الى 100 مل بالماء المقطر.

3- محلول كلوريد الباريوم 10% Barium chlorid

خذ وزن 10 غرام من كلوريد الباريوم وأذبها في 100 مل ماء مقطر .

4- محلول ثنائي فينيل امين Diphenylamine solution

خذ وزن 1 غرام من مادة diphenylamine وأذبها في 100 مل ماء مقطر واخلطها مع 100 مل حامض الكبريتيك H_2SO_4 .

5- محلول مخفف من حامض الهيدروكلوريك hydrochloric acid diluted solution

أ- محلول مخفف من حامض الهيدروكلوريك عياري 0.1 ، خذ 11.44 مل من حامض الهيدروكلوريك المركز (وزنه النوعي1.16-d ونقائه 37%) وخففه لحد حجم 1000 مل بالماء المقطر .

ب- محلول مخفف من حامض الهيدروكلوريك بنسبة 1:1 ، خفف 50 مل من الحامض مع 50 مل من الماء المقطر .

6- محلول ثايوسينات البوتاسيوم (KSCN) Potassium thiosynate solution

لتحضير محلول ثايوسينات البوتاسيوم 0.5عياري ((الوزن الجزيئي للمركب =97)) . خذ وزن 48.5 غرام وأذبها في حجم لتر ماء مقطر. ويمكن الاستعاضة بمركب سيانيد البوتاسيوم KSN (الوزن الجزيئي = 65) ولتحضير محلول 0.5 عياري خذ وزن 32.5 غرام أذبها في لتر ماء مقطر .

7- محلول نترات الفضة 5% Silver nitrate solution خذ وزن 5غرام ممن نترات الفضة $AgNO_3$ وأذبها في 30 مل ماء مقطر وبعد تمام الذوبان اكمل الحجم الى 100 مل بالماء المقطر وأحفظ المحلول في قنينة معتمة .

8- محلول نتريت الكوبلت الصوديومي Sodium cobalt nitrite **ملاحظه – الصبغة سامة يجب تحضيرها بحذر وفي fum hood كما انها صبغة غير ثابتة تدوم ليوم اويومين فقط.**

خذ وزن 7غرام من نتريت الصوديوم وأذبها في 13 مل ماء مقطر ثم أضف للمحلول 2 مل من حامض الخليك الثلجي Glacial acetic acid ستلاحظ تحرر غاز فوق أوكسيد النتروجين بني اللون , وكي تزيد من سرعة التخلص من غاز فوق أوكسيد النتروجين أدخل فقاعات هوائية للمحلول . ولتقليل الشد السطحي للمحلول اضف قطرة واحدة من مادة ناشرة مثل TWEEN 20 .

9- محلول مخفف لهيدروكسيد الصوديوم Sodium hydroxid diluted solution

أ- محلول مخفف من هيدروكسيد الصوديوم عياري 0.1 خذ وزن 4 غرام من هيدؤوكسيد الصوديوم وأذبها في 1000 مل ماء مقطر

ب- محلول مخفف من هيدروكسيد الصوديوم 10% خذ وزن 10غرام من هيدروكسيد الصوديوم وأذبها في 100 مل ماء مقطر.

10- محلول كلوريد القصديروز 20% Stannous chloride solution

أ - تحضير محلول أساس

خذ وزن 10 غرام من كلوريد القصدير $SnCl_2 . 2H_2O$ وضعها في ببيكر حجم 250 مل وأضف اليها 10 مل من حامض الهيدروكلوريك 20% HCL ثم سخن حتى الذوبان واكمل الحجم الى 50 مل بالماء االمقطر وأحفظ المحلول في قنينة معتمة .

ب - تحضير محلول العمل

خذ 20 مل من المحلول الاساس وضعها في دورق حجم 500 مل ثم اكمل الحجم لحد العلامة بأضافة 480 مل ماء مقطر .

11- محلول مخفف من حامض الكبريتيك عياري 0.1 sulphic acid diluted solution

خذ 9.39 مل من حامض الكبريتيك المركز H_2SO_4 (وزنه النوعي 1.84 ونقاوته 96%) وخفف في دورق حجمي الى 1000مل بالماء المقطر .

12 - محلول Titan yellow خذ وزن 40 ملغرام من مادة Titan yellow وأذبها في 100 مل ماء مقطر .

ثانيا. كيفية تحضير المستخلص النباتي

1- خذ وزن 5 غرام من ساق او حامل الورقة لآي نبات على ان يتم اختيار العينة من وسط النبات ثم قطعها الى اجزاء صغيرة بواسطة شفرة حادة .

2- ضع العينة في انبوبة اختبار واضف اليها 20 سم^3 من الماء المقطر و15 قطرة من حامض الخليك المخفف

3- سد فوهة انبوبة الاختبار بقطعة من parafilm وأضغط عليها بأصبع الابهام ثم رج الانبوب بشدة لمدة 5 دقائق .

4- رشح محتويات الانبوب من خلال ورق ترشيح وأحتفظ بالراشح للكشف عن العناصر المغذية التالية .

ثالثا. تجارب الكشف عن العناصر المغذية في مستخلص العصارة النباتية .

1- تجربة الكشف عن وجود النتروجين (على صورة نترات)

هدف التجربة : التعريف بكيفية التحقق من وجود النتروجين في عصارة النبات وأختلاف تركيزه حسب النباتات أو أعضائها التي أستُخلصت منها العصارة .

المواد المطلوبة :

1- مستخلص نباتي تم تحضيره وفق الطريقة المذكورة في الفقرة ثانيا من هذا الفصل .

2- أنابيب اختبار صغيرة .

3- محلول Diphenylamine .

طريقة العمل :

ضع قطرتين من مستخلص عصارة النبات في انبوبة اختبار صغيرة ثم اضف اليها اربع قطرات من محلول Diphenylamine ستلاحظ بدء تغير اللون وخلال 5 دقائق يصبح اللون بنفسجي مزرق دليل على وجود النترات في عصارة النبات وان سرعة تكون اللون ودرجة تركيزه تتناسب طرديا مع تركيز النترات في النبات

أعد التجربة مستعملا مستخلص نبات أخر وأحسسب الوقت اللازم لظهور اللون البنفسجي ودرجة تركيزه وقارنها مع التجربة الاولى عند كتابة التقرير .

2- تجربة الكشف عن وجود الفسفور

المواد المطلوبة :

1- مستخلصص نباتي . 2- أنابيب أختبار .

3- محلول مولبدات الامونيوم . 4- محلول كلوريد القصدير Stannous chloride .

طريقة العمل :

1- خذ 3 سم^3 من المستخلص النباتي وضعه في انبوبة اختبار ثم أضف اليه 5 قطرات من مولبدات الامونيوم ورج الانبوبة

2- اضف الى محتويات الانبوبه قطرتين من محلول كلوريد القصديروز ثم رج الانبوبه جيدا

3- أترك الانبوبة لمدة دقيقتين ستلاحظ ظهور لون ازرق دلالة على وجود الفسفور في المستخلص وان درجة غمق اللون تدل على وفرة الفسفور في النبات والعكس صحيح .

اعد التجربة مستعملا مستخلص نبات اخر او من أجزاء نباتية خازنة وقارن النتائج وفسرها عند كتابة التقرير عن التجربة .

3- تجربة الكشف عن وجود البوتاسيوم

المواد المطلوبة :

1- مستخلص نباتي . 2-- كحول اثيلي (تركيز 95%) .

3- محلول نتريت كوبلت الصوديومي Sodium cobalt nitrite . 4- أنابيب اختبار .

طريقة العمل :

1- خذ 3سم^3 من المستخلص النباتي وضعه في انبوبة اختبار ثم اضف اليه 3 قطرات من محلول نتريت كوبلت الصوديومي ورج الانبوبة .

2- أضف 2سم^3 من الكحول الاثيلي (تركيز 95%) الى محتويات الانبوبة مع الرج لمدة دقيقتين .

3- ستلاحظ تكون معلق قبل الترسب . وتتناسب كثافة المعلق تناسبا طرديا مع تركيز البوتاسيوم في النبات .

* **ملاحظة** – يجب أن لاتزيد درجة حرارة المحاليل المستعملة في التجربة عن 20 ^{5}م لكي لاتتلف لذا يجب أستعمال حمام مائي بارد عند ارتفاع درجة الحرارة أعد التجربة مستعملا مستخلص نبات يتميز بشراهته للتسميد البوتاسي وقارن النتائج .

4- تجربة الكشف وجود المغنيسوم

المواد المطلوبة :

1- مستخلص نباتي . 2- أنابيب اختبار.

3- محلول Titan yellow . 4- محلول هيدركسيد الصوديوم NaoH (10%) .

طريقة العمل :

1- خذ 1سم^3 من المستخلص النباتي وضعه في انبوبة اختبار واضف اليه قطرة واحدة من محلول Titan yellow ورج الانبوبة .

2- اضف قطرتين من محلول هيدروكسيد الصوديوم (10%) الى محتويات الانبوبة ثم رجها جيدا لمدة دقيقة .

3- لاحظ تكون لون يتراوح بين البرتقالي الفاتح والاحمر الغامق دلالة على وجود المغنيسيوم ودرجة تركيزه بالنبات .

* **ملاحظة** – اذا تكون لديك لون اصفر فأنه يدل على عدم وجود المغنيسيوم .

أعد التجررية مع مستخلص نبات اخر وقارن النتائج وفسرها عند كتابة تقرير التجربة .

5- تجربة الكشف عن وجود الكالسيوم

المواد المطلوبة :

1- مستخلص نباتي . 2- أنابيب اختبار .

3- محلول اوكزالات الامونيوم(4%) .

طريقة العمل :

1- خذ 1سم^3 من المستتخلص النباتي وضعه في انبوبة اختبار واضف اليه قطرتين من محلول اوكزلات الامونيوم ورج الانبوبة بشدة لمدة دقيقتين .

2- لاحظ تكون معلق ابيض دلالة على وجود الكالسيوم وتتناسب كثافته مع تركيز الكالسيوم في النبات .

أعد التجربة مستعملا مستخلص نبات اخر وقارن النتائج وفسرها عند كتابة التقرير .

6- تجربة الكشف عن وجود الحديد

المواد المطلوبة :

1- مستخلص نباتي . 2- محلول حامض الهيدروكلوريك المخفف (1:1)

3- محلول ثايوسينات البوتاسيوم (KSCN) عياري 0.5 . 4- أنابيب اختبار .

طرريقة العمل :

1- خذ 1سم^3 من المستخلص النباتي وضعه في انبوبة اختبار واضف اليه 3 قطرات من محلول ثايوسينات البوتاسيوم ورج الانبوبة .

2- اضف 0.5 سم^3 من محلول حامض الهيدروكلوريك المخفف الى محتويات الانبوبة .

3- لاحظ تكون لون الاحمر دلالة على وجود الحديد في المستخلص وان درجة غمق اللون تتناسب طرديا مع تركيز الحديد في النبات .

7- تجربة الكشف عن الكبريتات .

المواد المطلوبة :

1- مستخلص نباتي .2- محلول حامض الهيدروكلوريك المخفف (عياري 0.05 أو 0.1 N)

3- محلول كلوريد الباريوم (10%) . 4- انابيب اختبار .

طريقة العمل :

1- خذ 1سم^3 من المستخلص النباتي وضعه في انبوبة اختبار واضف اليه قطرة واحدة من محلول كلوريد الباريوم ورج الانبوبة لمدة دقيقتين .

2- لاحظ تكون معلق ابيض قبل ان يترسب دلالة على وجود الكبريتات .

3- أضف الى محتويات الانبوبة قطرتين من محلول حامض هيدروكلوريك المخفف ورج الانبوبة لكي يبقى المعلق ولا يترسب .إن كثافة المعلق تتناسب طرديا مع تركييز الكبريتات في النبات .

أعد التجربة مستعملا مستخلص نبات البصل وقارن النتائج وفسرها في التقرير.

8- تجربة الكشف عن وجود الكلوريد

المواد المطلوبة :

1- مستخلص نباتي . 2- محلول حامض الهيدروكلوريك المخفف (1:1) .

3- محلول نترات الفضة (عياري 0.1 N) أو 5% . 4- أنابيب اختبار.

طريقة العمل :

1-خذ 1سم^3 من المستخلص النباتي وضعه في انبوبة اختبار وأضف اليه قطرة واحدة من محلول نترات الفضة ورج الانبوبة.

2- لاحظ تكون معلق ابيض دلالة على وجود الكلوريدات في المستخلص .

3- أضف قطرتين من محلول هيدركلوريك المخفف الى محتويات الانبوبة لتبقى بشكل معلق دون ترسب وان كثافة المعلق تتناسب طرديا مع تركيز الكلوريد في النبات .

II- طريقة الاشعاع – يمكن استخدام النظائر المشعة لكشف حركة العناصر الغذائية داخل النبات , والنظير المشع هو نفس العنصر الغذائي العادي عدا ان عدد البروتينات في ذراته اكبر من عدد الاكتروناتمما يمولد اشعاعا قدد يكون من نوع الفا α او بيتا ß او كاما وربما يرتبط ذلك بطول الموجة Wave length وقد استثمرة الباحثون في مجال تغذية وفسلجة النبات هذه الخاصية لمتابعة حركة العناصر الغذائية داخل جسم النبات ومواقع فعل تلك العناصر من خلال الاشارة المرئية visible signal حيث يتم تغذية النبات بالنظير المشع للعنصر المغذي الذي يراد دراسته ومن خلال معرفة وزن المادة المضافة من النظير المشع والفعالية الاشعاعية يمكن تقدير كمية العنصر الممتصة من قبل النبات . ان الفعالية الاشعاعية للنظائر تختلف حسب النظير المشع ولذلك يتم حساب نصف العمر الاشعاعي T الذي يتراوح من بضع دقائق ال الالف السنين فمثلا الكاربون المشع C^{11} نصف عمره الاشعاعي هو 13 دقيقة بيمنا الكاربون المشع C^{14} فأن نصف عمره الاشعاعي هو 5700 سنة ويتم حساب نصف العمر الاشعاعي للنظير المشع حسب معادلات رياضية خاصة يدخل فيها الفعالية الاشعاعية التي يتم تقديرها بشكل دقيق باستخدام اجهزة خاصة لتقدير الاشعاع في النظائر المشعة اما في حالة عدم توفر مثل هذه الاجهزة فتعتمد تقنية التصوير الشعاعي الذاتي Autoradiography التي من خلالها يمكن الكشف عن الاشعاع من نوع بيتا ß –radiation بصورة خاصة والاشعاعات الاخرى بشكل عام بتقنية بسيطة يمكن تنفيذها في المختبر بابسط المتطلبات .

التجربة المختبرية

تجربة أستخدم التصوير الاشعاعي الذاتي للكشف عن العنصر في النبات .

Autoradiography using to demonstrate element move in plant.

المواد المطلوبة :

1 – غرفة مظلمة او موقع يمكن ان يوفر ظلمة تامة كما في مختبرات تحميض افلام التصوير .

2– نباتات طماطة , خيار , باذنجان , خس , سلق , يتم أحضار مجموعتين من نباتات كل نوع وكما يلي:

* نباتات تم تسميدها بعنصر مغذي اعتيادي .

**نباتات تم تسميدها بالنظير المشع لنفس العنصر المغذي .

3– رقائق أشعة سينية X–Ray غير مستعملة محفوظة جيداً .

4– لوحين من الخشب المصقول .

5– شفافات بولي اثيلين.

طريقة العمل :

يتم أخذ النباتات التي يراد فحص العنصر فيها بعد 24 ساعة من تسميدها بالعنصر العادي او النظير المشع وتنقل الى الغرفة المظلمة . يوضع احد لوحي الخشب فوق المنضدة ويغلف بطبقة من البولي اثيلين ثم توضع رقيقة الاشعة بعد رفع الشفافة الورقية التي تغطيها بحيث يكون الوجه الحساس الى الاعلى ثم تغطى بشفافة بولي اثياين ثم يوضع فوقها النبات او الاوراق وتغطى بشفافة من البولي اثيلين ثم يوضع فوقها اللوح الخشبي الثاني بعدها يتم لف ورق جرائد حول اللوحين الخشبيين وتترك لمدة 24 ساعة في الغرفة المظلمة حيث تفتح وتؤخذ رقائق الاشعة لتنقل الى المحاليل المظهرة ثم محاليل التثبيت ((كما في عملية تحميض افلام التصوير)) بعد ذلك يمكن عرض رقائق الاشعة امام مصدر ضوء سنلاحظ وجود مواقع فاتحة تدل على ان هذه المواقع تعرضت لومضاة أشعة مصدرها النظير المشع للعنصر المغذي ومواقع معتمة تدل على عدم وجود العنصر في تلك المواقع يتم تأشير هذه المواقع على الاوراق أو أعضاء النبات التي يتراكم فيها العنصر حسب ماتظهره شدة سطوع الضوء في رقائق الاشعة المستعملة في التجربة .

البـــاب الخامس

البناء الضوئي The photosynthesis

أولاً- تأثير الضوء :

التجربة العملية :

أثبات أن الضوء ضروري لعملية البناء الضوئي.

Demonstrate that the light is necessary for photosynthesis

المواد المطلوبة :

1- نبات نامي في سندانه.
2- ورق اسود.
3- قارصة تثبيت الورق.
4- كحول اثيلي.
5- محلول اليود.
6- ماء.

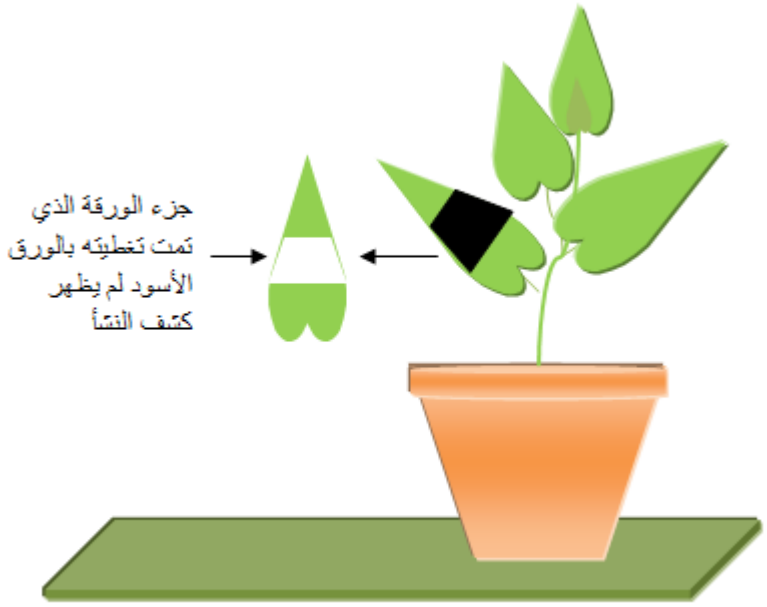
طريقة العمل :

1- ضع النبات المخصص لتنفذ التجربة في مكان مظلم قبل 48 ساعة من بدء التجربة وذلك لتقليل محتوى الأوراق من النشأ إلى أقل حد ممكن.

2- حدد ورقة على النبات وأعمل على تغليفها بشكل جزئي بالورق الأسود كما في الشكل (27) وثبته باستعمال قارصة .

3- يتم تعريض النبات إلى الضوء لمدة ساعتين. بعدها تؤخذ الأوراق التي تم تغطية جزء منها بالورق الأسود ويتم اختبار للنشأ فيها باستعمال محلول اليود حيث يتم قتل الأوراق أولا" من خلال وضعها في ماء يغلي وثم قصر لونها بالكحول.

ستلاحظ تلون جزء الورقة الذي لم يتم تغطيته بالورق الأسود باللون الأزرق حيث انه بقي يتعرض للضوء مما سبب وجود للنشأ في هذا الجزء بينما جزء الورقة الذي تم تغطيته بالورق الأسود ولم يستلم أو يتعرض للضوء لم يظهر فيه وجود للنشأ فلم يتلون باللون الأزرق نتيجة لمعاملته باليود. مما يعني ضرورة وجود الضوء لإنتاج مركبات بناء النشأ خلال البناء الضوئي.



شكل (27) أثبات أن الضوء ضروري للبناء الضوئي .

ثانياً- تأثير الأوكسجين :

التجربة العملية :

إثبات أن الأوكسجين يتحرر من عملية البناء الضوئي

Demonstrate that oxygen is liberated in the process of photosynthesis

المواد المطلوبة:

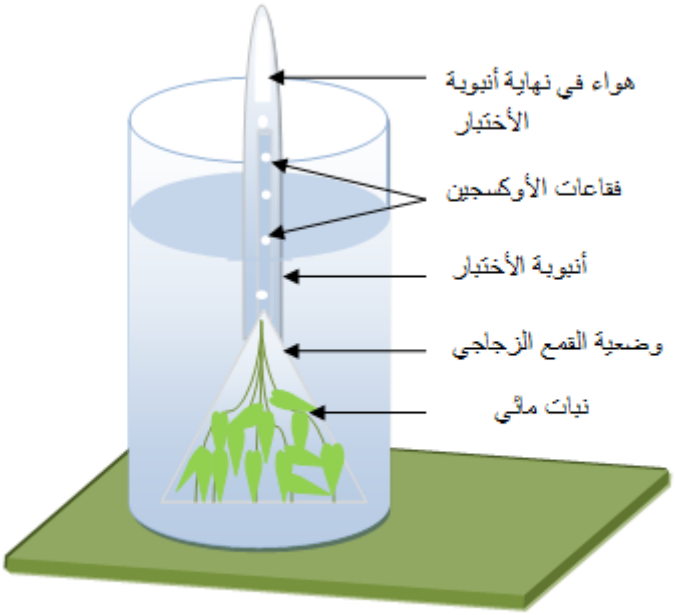
1- نبات الشمبلان.
2- بيكر زجاجي حجم 1.5 أو 2 لتر.
3- أنبوبة اختبار.
4- قمع زجاجي.
5- ماء نهر.
6- بايروكالول (حامض بايروكاليك Pyrogallic acid).

طريقة العمل

1- ضع كمية من ماء النهر في البيكر الزجاجي (أكثر من نصف حجم البيكر بقليل) ثم خذ نبات الشمبلان وضعه تحت القمع الزجاجي الذي يوضع داخل ماء البيكر بحيث تكون قاعدة ساق نبات الشمبلان متجهة إلى الأعلى عند فتحة الأنبوبة العليا للقمع الزجاجي بعدها يتم ملئ أنبوبة الاختبار بالماء العادي وتوضع فوق أنبوبة القمع الزجاجي كما في الشكل (28).

2- تترك فترة من الزمن (20- 30دقيقة) سيلاحظ ظهور فقاعات الهواء التي تخرج من نهاية ساق نبات الشمبلان وتتجمع في قمة أنبوبة الاختبار وتترك حتى تتجمع بحجم مناسب من الأوكسجين.

3- للتأكد من كونه غاز الأوكسجين يتم إدخال حامض البيروكالول الذي من صفاته أمتصاص الأوكسجين. فإذا كان الغاز أوكسجين فان الحامض سيمتصه بسرعة وتمتلئ الأنبوبة مجددا" بالماء. مما يعني أن ما أنتجه نبات الشمبلان خلال عملية البناء الضوئي هو الأوكسجين.



شكل (28) أثبات تحرر الأوكسجين من عملية البناء الضوئي.

ثالثاً- تأثير ثاني أوكسيد الكاربون

التجربة العملية :

أثبات أن ثاني أوكسيد الكاربون ضروري لعملية البناء الضوئي.

Demonstrate that carbon dioxide is necessary for photosynthesis.

المواد المطلوبة :

1- نبات نامي في سندانه عدد 2 .
2- بيكر حجم 250 مللتر عدد 2 .
3- أنبوبة زجاجية عدد 2 .
4- ناقوس زجاجي عدد 2 .
5- قمع زجاجي عدد 2 .
6 - لوح زجاجي عدد 2 قياس 50 X 50 سم.
7- كرات زجاج.
8- كاربونات الصوديوم Soda lime .
9- أكياس بولي اثلين تكفي لتغليف السندانه.
10- دهان فازلين.
11- هيدروكسيد البوتاسيوم KOH .
12- ماء مقطر .
13- سدادات فلينية أو مطاطية للناقوس ذات فتحتين تسمح بإدخال أنبوب زجاجي.

طريقة العمل :

1- يتم وضع النباتات لمدة 48 ساعة قبل تنفيذ التجربة في مكان مظلم وذلك لتقليل محتوى الأوراق من المواد الغذائية المصنعة في الأوراق. مع تغليف السندانه بالبولي اثلين.

2- يوضع في البيكر الأول حجم معين من هيدروكسيد البوتاسيوم ويوضع هذا البيكر بجانب إحدى السندانتين على لوح زجاجي.

3- يوضع في البيكر الثاني نفس الحجم الذي وضع في البيكر الأول من الماء المقطر ويوضع بجانب النبات الآخر على اللوح الزجاجي الثاني.

4- يوضع ناقوس زجاجي فوق كل واحد من النباتين ويكون مع النبات الأول بيكر يحوي هيدروكسيد البوتاسيوم بينما يكون مع النبات الثاني بيكر فيه ماء مقطر.

5- تغلق الفتحة العليا للناقوسين بسدادة فلينية أو مطاطية ذات ثقبين.

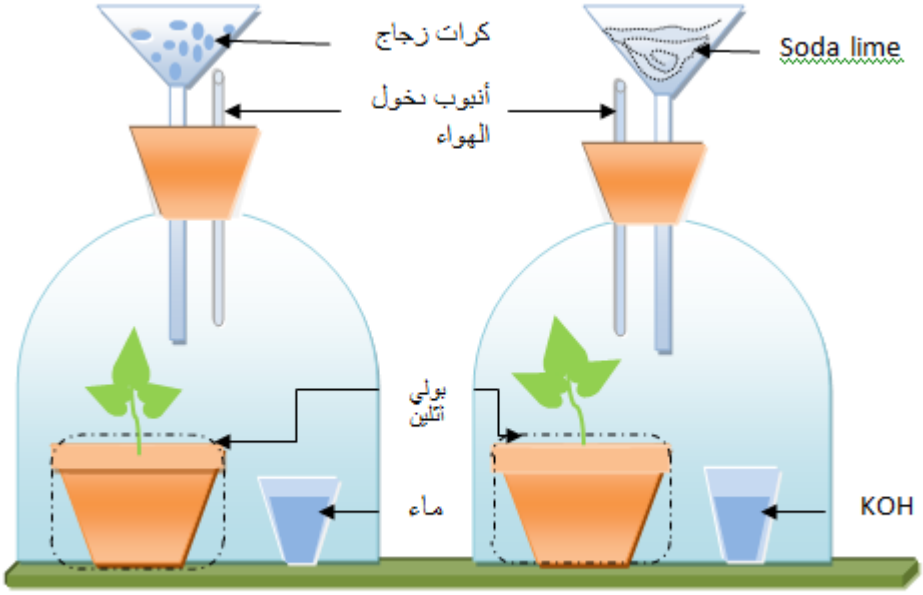
6- يمرر أنبوب زجاجي في احد الثقبين لكلا الناقوسين للتنفس ويمرر في الثقب الثاني أنبوب القمع الزجاجي لكلا الناقوسين.

7- يوضع في القمع للناقوس الذي تحته ماء في البيكر يتم وضع كرات زجاج ويتم وضع Soda lime في القمع الزجاجي للناقوس الذي تحته بيكر يحوي هيدروكسيد البوتاسيوم. كما في الشكل (29).

8- يتم نقل الناقوسين مع ما تحتيهما برفع كامل اللوح الزجاجي وما فوقه إلى موقع الضوء مع ضمان التهوية الجيدة ويترك مدة1- 2ساعة.

يؤخذ ورقة من كل من النباتين ويتم غسلها في ماء يغلي لقتل الورقة ثم يفحص النشأ باستعمال محلول اليود ويتم التصبيغ بالكحول.

ستُلاحظ أن ورقة النبات الذي وضع بجانبه بيكر يحوي ماء أنها تتلون باللون الأزرق مما يدل على وجود النشأ. بينما أوراق النبات الذي وضع بجانبه بيكر يحوي هيدروكسيد البوتاسيوم فإنها سوف لن تتلون باللون الأزرق لعدم وجود النشأ. ويعود ذلك لفشل أوراق هذا النبات في انجاز عملية البناء الضوئي لغياب ثاني اوكسيد الكاربون حيث امتصه هيدروكسيد البوتاسيوم ، في حين أوراق النبات الثاني الذي استُبدل معه هيدروكسيد البوتاسيوم بالماء فان عملية البناء الضوئي تمت وذلك لوجود ثاني اوكسيد الكاربون حيث لا يتأثر بوجود الماء.



شكل (29) أثبات أن ثاني أوكسيد الكاربون ضروري للبناء الضوئي .

رابعاً- تأثير الضوء وثاني أوكسيد الكاربون

التجربة العملية :

أن الضوء وثاني اوكسيد الكاربون ضروريان لإتمام عملية البناء الضوئي.

Demonstrate that light and carbon dioxide are necessary for photosynthesis.

المواد المطلوبة :

1- نبات نامي في سندانه.
2- قنينة زجاجية ذات فوهة عريضة.
3- محلول هيدروكسيد البوتاسيوم KOH.
4- حامل حديدي مع ماسكة.
5- سدادة مطاطية ذات شق عريض يسمح بمرور ورقة النبات.

طريقة العمل :

يوضع النبات النامي في السندانه لمدة 48 ساعة قبل بدء تنفيذ التجربة في موقع مظلم لتجفيف الورقة من محتواها من النشأ.

يتم تحضير محلول هيدروكسيد البوتاسيوم ويوضع في القنينة الزجاجية ذات الفوهة العريضة بحيث يملئ ثلث حجمها.

1- تزال أوراق النبات ويتم إبقاء ورقة منشطة واحدة مع القمة النامية للنبات ويتم إدخال نصف هذه الورقة من خلال الشق الموجود في السدادة المطاطية مع الملاحظة عند تثبيت السدادة على فوهة القنينة أن لا تلامس الورقة محلول هيدروكسيد البوتاسيوم. كما في الشكل (30). تنقل

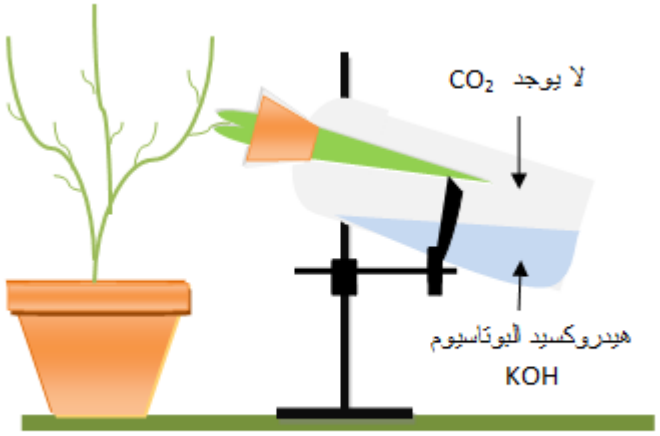
كامل التجربة (المنضدة التي وضع عليها سندانه النبات والقنينة الزجاجية التي تحوي هيدروكسيد البوتاسيوم وأدخلت فيها ورقة النبات) إلى موقع مضيء كالبيت الزجاجي أو خارج المختبر لفترة زمنية من 1–2ساعة.

2– يتم إنهاء التجربة ، وتؤخذ الورقة ويتم تغطيسها في ماء يغلي وتلَون بالكحول ويتم الكشف عن النشأ بمحلول اليود ، حيث سنلاحظ :

*– أن مساحة جزء الورقة التي بقيت خارج القنينة الزجاجية تتلون باللون الأزرق كونها تحتوي على النشأ لان ذلك الجزء استطاع أتمام عملية البناء الضوئي.

**– أن مساحة جزء الورقة الواقع ضمن السدادة المطاطية لم تتلون لأنها فشلت في إتمام عملية البناء الضوئي بسبب غياب الضوء فيها.

***– أن مساحة جزء الورقة التي كانت داخل القنينة الزجاجية فأنها أيضا" لم تتلون على الرغم من أنها كانت قد تعرضت للضوء لكنها لم تتمكن من إتمام عملية البناء الضوئي بسبب عدم توفر ثاني اوكسيد الكاربون داخل القنينة نتيجة امتصاصه من قبل هيدروكسيد البوتاسيوم.



شكل (30) أثبات أن الضوء وثاني أوكسيد الكاربون ضروريان للبناء الضوئي .

خامساً– تأثير لون الضوء (طول الموجة الضوئية)

1– تأثير لون الضوء (طول موجة الأشعة الضوئية) على معدل البناء الضوئي.

Effect of light colour (light wave length) on photosynthesis rate.

تجربة أثبات تأثير لون الضوء على معدل البناء الضوئي.

Demonstrate that light colour is effect on photosynthesis rate.

المواد المطلوبة :

1– فلاسك زجاجي حجم 500 سم^3 أو 1000 سم^3 عدد 4 .

2– شفافات ملونه (احمر، ازرق و اخضر) .

3- سدادات فلينية أو مطاطية عدد 4 .

4- قمع زجاجي بأنبوب تصريف طويل عدد 4 .

5- نبات مائي كالشمبلان *Ceratophylum demersm* عدد 4 .

6 – ساعة توقيت .

طريقة العمل :

يتم تحديد 4 نباتات متماثلة قدر الإمكان في الحجم والشكل والعمر ، يؤخذ كل من النباتات وتوضع قاعدة الساق (منطقة القطع) في نهاية أنبوب تصريف القمع الزجاجي بعد إن يتم إدخال ذلك الأنبوب من خلال ثقب سدادة فلينية.

يتم إدخال كل واحد من النباتات المثبتة قاعدة ساقه في نهاية القمع الزجاجي في فلاسك وتغلق فوهة الفلاسك بالسدادة الفلينية الموجودة عند غلق الأنبوبة الزجاجية للقمع الزجاجي.

تملئ الفلاسكات بالماء حتى نهاية الطرف العلوي لأنبوبة تصريف القمع .

يتم تغليف السطح الخارجي للفلاسكات كالآتي:

الفلاسك الأول يترك بدون تغليف.

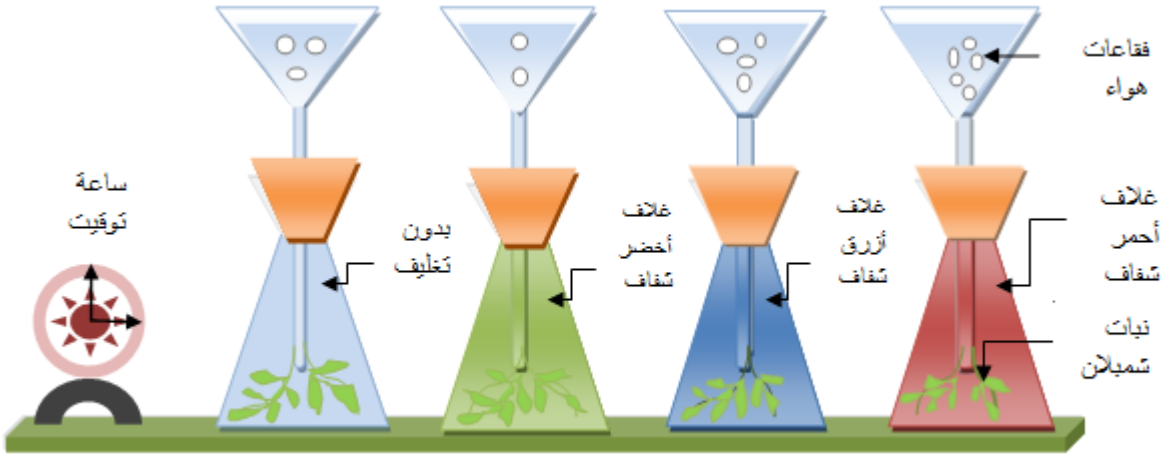
الفلاسك الثاني يغلف بشفافة لونه احمر.

الفلاسك الثالث يغلف بشفافة لونها ازرق.

الفلاسك الرابع يغلف بشفافة لونها اخضر. شكل (31).

يبدأ بتشغيل ساعة التوقيت ويتم حساب عدد فقاعات الهواء التي تخرج من قاعدة النبات لكل نبات على حده خلال وحدة الزمن.

ستلاحظ أن عدد الفقاعات الهوائية التي تخرج من النبات الذي تم تغليفه بالشفافة حمراء اللون اكبر من عدد فقاعات الهواء التي تخرج من النبات الذي وضع في الفلاسك المغلف باللون الأزرق واقل عدد هو فقاعات الهواء التي خرجت من النبات الذي وضع في الفلاسك الذي تم تغليفه بالشفافة الخضراء ، قارن ذلك مع عدد الفقاعات التي تخرج من النبات الموضوع في الفلاسك بدون تغليف.



شكل (31) أنبات تأثير لون الضوء (طول الموجه الضوئية) على معدل البناء الضوئي .

سجل ملاحظاتك، قارن النتائج وفسر وناقش تلك النتائج واكتب تقرير التجربة.

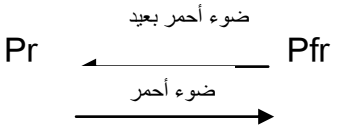
2- تأثير طول الموجة الضوئية على أنبات بذور الخس .

Effect of light wave length on the germination of lettuce seeds .

تجربة تأثير الفايتكروم على أنبات بذور الخس صنف Grand Rapids .

Phytochrome effects on the germination of lettuce seeds .

الفايتكروم Phytochrome صبغات نباتية تحث الأستجابة بالتشكيل الضوئي Photomorphogenesis في النباتات وهي صبغات ذات أهمية . فهي تمتص الضوء الأزرق والضوء الأحمر وأنعكاس هذا التأثير بأستعمال ضوء ذو موجات أطول (710- 740 نانومتر) والذي يسمى ضوء أحمر بعيد Far-red له دور كبير في فهم هذا المركب . فقد لاحظ علماء فسيولوجيا النبات أن الضوء الأحمر ينشط أنبات بذور الخس ، بينما أذا عُرضت تلك البذور الى ضوء أحمر بعيد مباشرة بعد تعريضها لضوء أحمر فأن التأثير يصبح معكوساً حيث يُثبط الأنبات .هذا يعني أن المُستقبل الضوئي لهذا النظام يكون منعكس ضوئياً ، بمعنى أخر أنه يغير خصائصه الأمتصاصية (تغير اللون) بعد المعاملة بالضوء الأحمر والأحمر البعيد . أن النبات النامي في الظلام فأن الفايتكروم يمتص الضوء الأحمر Pr والذي يمتاز بلون أزرق والذي يتحول بواسطة الضوء الأحمر الى شكل يمتص الضوء الأحمر البعيد Pfr والذي يمتاز بلون أخضر مزرق ، كما أن الشكل Pfr يتحول الى Pr بواسطة الضوء الأحمر البعيد .



ويعد الشكل Pfr الأكثر نشاطاً والمؤثر في الفعاليات الفسلجية ، ويمكن دراسة هذه الظاهرة من خلال تقدير أحتياجات أنبات بذور الخس صنف Grand Rapids .

المواد المطلوبة :

1- 50 بذرة خس من الصنف لكل طبق بتري (يستخدم طبقين لكل معاملة) .

2- ماء أيوني Deionized water .

3- أطباق بتري Petri dishs قطر 5 سم معقمة مع ورقتي ترشيح لكل طبق (تكفي 11 معاملة) .

4- محرار .

5- ماصة ذاتية العمل Automatic pipet .

6- قلم تعليم Marking pen .

7- ورق معدني Aluminum foil .

8- غرفة مظلمة مع ضوء أخضر وضوء أحمر وأحمر بعيد Green safe light and red/far-red lights .

ولفهم كيف يعمل Pfr على تحفيز أنبات البذور لابد من أن تتشرب تلك البذور بكمية من الماء قبل تعريضها للضوء ليكون مؤثراً والذي قد يكون كأحتياج للرطوبة لتحول Pr الى Pfr .

طريقة العمل :

أولاً- مرحلة التحضير :

1- حضر 8 أطباق قبل يوم من بدء التجربة للمعاملات 2 ، 4 ، 6 و 8 .

2- حضر 14 طبق مع 50 بذرة و 4 مللتر ماء لكل طبق في ساعة التنفيذ .

3- تهيئة الظروف التمهيدية وذلك بوضع البذور تحت الأشعة الحمراء البعيدة لمدة ساعة مع التأكيد على أن درجة الحرارة لاتزيد على 25 درجة مئوية وأن لا تكون البذور في مرحلة سكون حراري Thermodormant .

ثانياً- المعاملات :

بعد ساعة واحدة من تهيئة ظروف مرحلة التحضير تبدء المعاملات وذلك بأعطاء التحفيز بالضوء الأحمر والضوء الأحمر البعيد .

1- معاملة بالضوء الأبيض (مقارنة) .

2- معاملة بالضوء الأبيض (بعد 24 ساعة من تشرب البذور بالماء في الظلام) .

3- معاملة بالظلام .

4- معاملة بالظلام (بعد 24 ساعة من تشرب البذور بالماء في الظلام) .

5- معاملة بالضوء الأحمر (لمدة دقيقة) .

6- معاملة بالضوء الأحمر (لمدة دقيقة بعد 24 ساعة من تشرب البذور بالماء في الظلام) .
7- معاملة بالضوء الأحمر البعيد (لمدة 5 دقائق) .
8- معاملة بالضوء الأحمر البعيد (لمدة 5 دقائق بعد 24 ساعة من تشرب البذور بالماء في الظلام) .
9- معاملة بالضوء الأحمر (لمدة دقيقة) + معاملة بالضوء الأحمر البعيد (لمدة 5 دقائق) .
10- معاملة بالضوء الأحمر(لمدة دقيقة) + معاملة بالضوء الأحمر البعيد (لمدة 5 دقائق) + معاملة بالضوء الأحمر(لمدة دقيقة).
11-- معاملة بالضوء الأحمر(لمدة دقيقة) + معاملة بالضوء الأحمر البعيد (لمدة 5 دقائق) + معاملة بالضوء الأحمر(لمدة دقيقة) + معاملة بالضوء الأحمر البعيد (لمدة 5 دقائق) .
بعد تعريض البذور لمعاملات الضوء قم بتغليف أطباق المعاملات 1 و 2 بورق معدني وضعها لمدة 48 ساعة في صندوق مظلم . كما تأكد من عدم تعرض البذور للضوء ، وراقب درجة الحرارة لجميع المعاملات . بعد 48 ساعة أحسب النسبة المئوية للأنبات لكل معاملة وأكتب تقرير التجربة مع رسم منحنى الأنبات وفسر النتائج التي تحصل عليها .

سادسا"- صبغات البلاستيدات الخضراء Chloroplasts pigments

تجربة فصل وتشخيص البلاستيدات الخضراء بكروموتوغرافيا الورق.

Isolation and identification chloroplasts pigments by paper chromatograph.

الجزء الأول : استخلاص الصبغات ((يتم العمل في ظروف معتمة (قلة إضاءة)).

المواد المطلوبة:

1- نسيج أوراق نباتية خضراء تحوي الكلوروفيل بوزن غرام واحد. 2- كحول ايثانول (تركيز 95%) حجم 100سم^3.

3- أسيتون (تركيز 85% حجم/ حجم) 20سم^3. 4- أسيتون نقي 10 سم^3.

5- ايثيل أيثر Ethyl ether 50سم^3. 6- كاربون رباعي الكلوريد Carbon tetrachloride 50سم^3.

7- كاربونات الكالسيوم (مادة صلبة) $CaCO_3$. 8- سلفات الصوديوم (صلبة غير متميئة (Na_2SO_4 – anhydrous solid).

9- هاون خزفي. 10- قمع فصل حجم 250 سم^3.

11- حامل مع ماسكة. 12- أنبوبة اختبار.

13- قنينة زجاجية تغلق بإحكام مع سدادة.

طريقة العمل :

1- ضع غرام واحد من أنسجة أوراق خضراء مع مراعاة إن يكون بضمنها عروق الورقة الكبيرة في هاون من الخزف وضع معها كمية قليلة من كاربونات الكالسيوم وتطحن جيدا" مع خلطها بحجم 5 سم^3 من الأستون تركيز 95% بحيث تصبح عجينة.

2- استعمل ماصة لسحب السائل الأخضر الرائق الذي يكون في القسم العلوي وانقله إلى قمع فصل حجم 250 سم^3 يحتوي قليل من ايثيل أيثر.

3- كرر عملية الاستخلاص مرة ثانية بإضافة حجم 5سم^3 من الأستون 95% واطحن النموذج ثم اسحب السائل الرائق واجمعه في قمع الفصل.

4- أضف حجم متساوي من الأستون ومن ايثيل أيثر إلى بقايا نسيج الورقة في الهاون واطحن جيدا" ثم انقل السائل الأخضر الرائق إلى قمع الفصل.

5- أضف ايثيل أيثر إلى بقايا النسيج في الهاون واسحق جيدا" وذلك لاستخلاص الصبغات الصفراء ثم انقل السائل الأخضر الرائق إلى قمع الفصل.

6- أضف إلى المحلول الأخضر الذي تم جمعه في قمع الفصل 100سم^3 من الماء المقطر بحيث يضاف بهدوء مع حافة القمع لكي لا يتكون مستحلب ، وقم بتدوير القمع لعدة دقائق مع مراعاة عدم الرج وذلك للإسراع في نقل الأستون والمواد الأخرى إلى طبقة الماء التي ستتجمع في أسفل القمع.

7- قم بتثبيت القمع واتركه لمدة 20 دقيقة ستلاحظ تكون طبقتين منفصلتين.

8- افتح صنبور قمع الفصل وتخلص من الطبقة السفلى بصورة كاملة ثم اعد غلقه.

9- أعد عملية الغسل ثلاث مرات حتى يتم التخلص من الأستون.

10- أضف حجم من5-10سم^3 من إيثيل أيثر لتعويض ما تم فقده من إيثيل أيثر مع الماء كونه يذوب في الماء بدرجة معينة.

11- يفضل إن يكون حجم المحلول النهائي الذي يحمل الصبغة بحدود 10سم^3 وفي حالة الحصول على حجم اكبر من ذلك يوضع المحلول في بيكر ويترك ليتبخر قسم منه.

12- أنقل محلول الصبغة إلى قنينة زجاجية محكمة الغلق تحوي ß 2 غرام من كبريتات الصوديوم اللامائية ثم أغلقها جيدا" ورجها لعدة دقائق لكي يمتص الملح بقايا الماء الموجود مع ايثيل أيثر ثم اترك القنينة حتى يترسب الملح وبذلك يصبح المستخلص جاهز للتجربة العملية.

الجزء الثاني : فصل صبغات البلاستيدات بواسطة كروموتوغرافيا الورق.

المواد المطلوبة:

1- وعاء فصل اسطواني بارتفاع 45 سم Cylinder glass jar .

2- سدادة فلينية بقطر فوهة الوعاء .

3- بترولیم أیثر Petrolam ether .

4- أستون Acetone .

5- شريط ورق كروموتوغرافيا نوع Whatman رقم .

6- سلك تعليق يربط بالسدادة لتثبيت الشريط الورقي .

7- مستخلص الصبغات المركز .

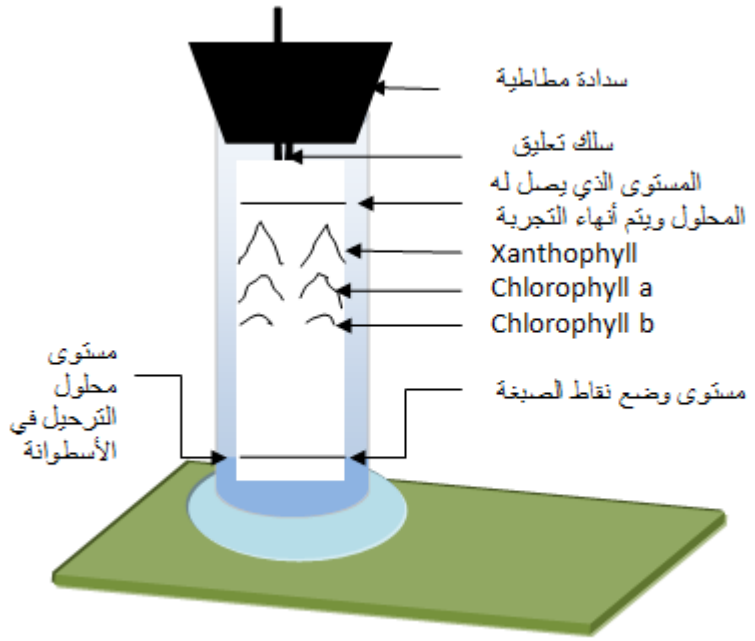
طريقة العمل :

1- يتم تثبيت وعاء الفصل الزجاجي الاسطواني فوق منضدة مستوية ويتم تحضير 100 سم^3 من خليط يتكون من بترولیم أیثر والأستون بنسبة 10 :1 أو 10 : 1.2 توضع في الوعاء وتغلق فوهته لنحصل على جو مشبع بالمحلول.

2- يتم قطع شريحة من ورق الفصل بحيث يمكن دخولها داخل وعاء الفصل واترك مسافة 1.5أنج من نهايتها واعمل خط بقلم الرصاص وعلى هذا الخط ضع قطرات صغيرة باستعمال Micropipette من مستخلص الصبغات المركز بحيث يبعد مركز كل نقطة عن الأخرى 2 أنج واتركها لتجف في الهواء.

3- تفتح السدادة لوعاء الفصل وتدخل الورقة بحيث تنغمس نهايتها في المحلول ويتم تعليقها بالسلك المثبت في السدادة بحيث يكون مستوى نقاط مستخلص الصبغات التي تم تحمليها على الورقة فوق مستوى المحلول في الوعاء ويغلق الوعاء.

4- يترك مدة حتى يصل سريان المحلول في الورقة إلى ارتفاع اقل من نهايتها العليا بحدود 10 سم. حيث تستخرج وتجفف ويتم التشخيص اعتمادا على ألوان البقع التي تظهر. والشكل (32) يوضح ذلك.



شكل (32) عملية فصل الصبغات النباتية بكروموتوكرافيا الورق

الباب السـادس

التنفـس The respiration

أولا"– أن ثاني اوكسيد الكاربون هو ناتج عملية تنفس النباتات.

التجربة العملية

تجربة أثبات أن النبات ينتج ثاني أوكسيد الكاربون خلال عملية التنفس.

Demonstrate that carbon dioxide is produced by plants during respiration.

المواد المطلوبة :

1– نبات نامي في سندانه.
2– ناقوس زجاجي ذو فوهة عريضة.
3– لوح زجاجي.
4– فلاسك حجم 500سم^3 عدد 2.
5– ماء كلسي Baryta water.
6– Soda lime trap .
7– أنبوب زجاجي للتهوية عدد 4على شكل حرف U و L .
8– سداد فليني ومطاطي للناقوس والفلاسكات.
9– دهان فازلين.
10– قماش اسود ونايلون بولي اثيلين لتغليف السندانه والناقوس.

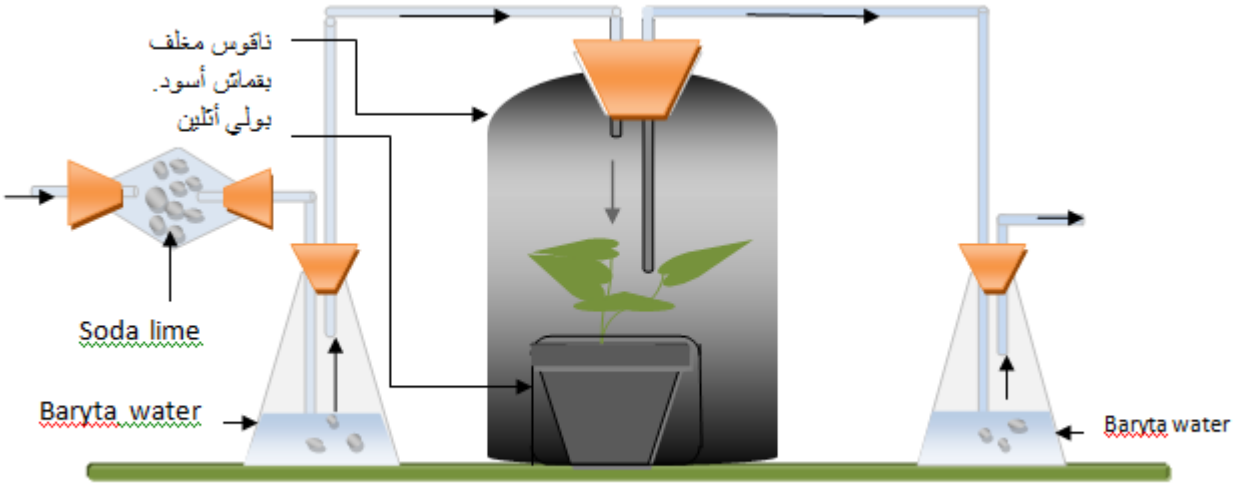
طريقة العمل :

1– يوضع النبات فوق اللوح الزجاجي ويتم تغليف السندانه بشفافة النايلون لمنع التبخر والتبادل الغازي مع الجو الداخلي الذي سيتكون بعد وضع النبات تحت الناقوس الزجاجي ولمنع تسرب الهواء تطلى قاعدة تلامس الناقوس باللوح الزجاجي بالفازلين.

2– يتم تثبيت سدادة الفتحة العليا للناقوس بعد إن يمرر من خلال ثقبين فيها أنبوبتين زجاجتين يكون مستوى نزول كل واحدة منها داخل الناقوس يختلف عن الأخرى. مع مراعاة تغليف الناقوس الزجاجي بقماش اسود.

3– يوضع في كل من الفلاسكين حجم 250 سم^3 من محلول هيدروكسيد البوتاسيوم. ثم تغلق فتحتيهما بسدادتين في كل منهما ثقبين. يمرر في احد الثقبين الأنبوبة الزجاجية القادمة من الناقوس. وفي الثقب الآخر يدخل أنبوبة زجاجية للتبادل الغازي مع المحيط الخارجي.

4– يربط على أحدى الأنبوبتين المخصصة للتبادل الغازي حاوية زجاجية شبه كروية يوضع فيها كاربونات الصوديوم Soda lime مع استمرار أنبوبة زجاجية للتبادل الغازي مع المحيط الخارجي وكما موضح في الشكل (33). بعد وقت قصير يلاحظ تغير لون الماء الكلسي الذي يدخل إليه الهواء من داخل الناقوس الذي تحته النبات مما يؤدي إلى تغير لون ماء baryta water إلى حليبي بينما يبقى الماء في الفلاسك الثاني المرتبط بالحاوية الزجاجية التي وضع فيها Soda lime بدون تغير لان الهواء يأتي خالي من ثاني اوكسيد الكاربون من خلال مروره على Soda lime حيث يمتص CO_2. أما الماء الكلسي في الفلاسك الأول فان مرور الهواء داخل الناقوس على النبات ثم خروجه إلى الماء الكلسي سيجعل تغير اللون دلالة على أن ثاني اوكسيد الكاربون الذي أنتجه النبات هو ما سبب تغير اللون.



شكل (33) كيفية قياس ثاني أوكسيد الكاربون الناتج من تنفس البذور .

ثانيا:- تتحرر حرارة من عملية التنفس.

التجربة العملية

تجربة أثبات تحرر حرارة كجزء من طاقة التنفس.

Demonstrate that some energy is released in the form of heat during respiration.

المواد المطلوبة :

1- دورق معزول حراريا عدد 2 .

2- محرار حساس عدد 2 .

3- بذور، قسم منها حصل فيها الإنبات بعد نقعه لمدة في الماء وتم تجفيفها. وقسم آخر بذور جافة لم يحصل فيها إنبات .

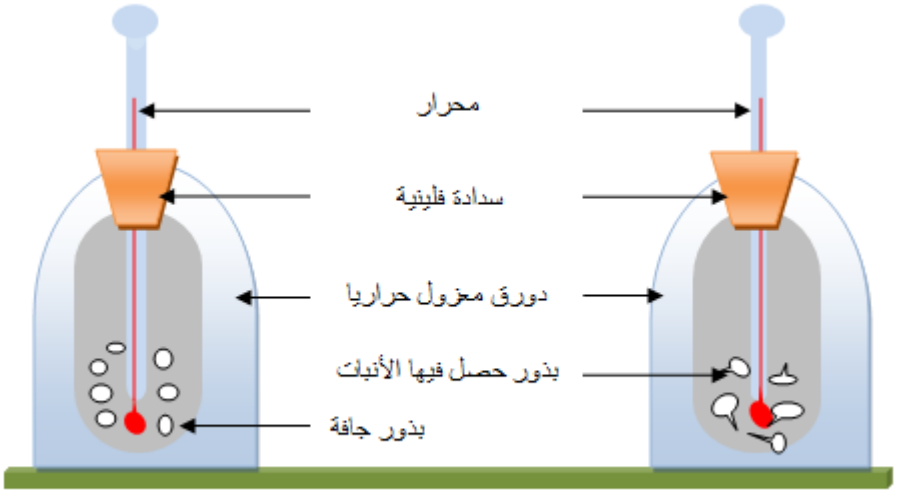
4- سدادة فلينية عدد 4 .

طريقة العمل :

1- ضع وزن معين من البذور التي حصل فيها الإنبات في واحد من الدورقين وضع في الدورق الثاني وزن من البذور الجافة .

2- ثبت محرار في وسط كل من الدورقين وأغلق فوهة الدوارق بسدادة فلينية تسمح بمرور المحرار. كما في الشكل (34) .

أترك لفترة زمنية قليلة ستلاحظ بعدها أن المحرار في الدورق الذي يحتوي بذور نابتة قد سجل ارتفاعا" في درجة الحرارة يفوق درجة حرارة المحرار الآخر الموضوع في الدورق الذي يحتوي بذور جافة غير نابتة .



شكل (34) كيفية قياس الحرارة المنبعثة من البذور النابتة وغير النابتة (الجافة) .

ثالثا"- أختلاف سرعة التنفس.

التجربة العملية

تجربة : مقارنة بين مقدار ثاني اوكسيد الكاربون الناتج خلال عملية تنفس بذور حصل فيهاالإنبات وبذور جافة لم يحصل فيها إنبات.

Compare the evolution of carbon dioxide produce during respiration in germinating and ingeminated seeds.

المواد المطلوبة :

1- دورق زجاجي ذو انحناء جانبي حجم 500 سم^3 عدد3 .
2- بيكر زجاجي حجم 500 سم^3 عدد 3 .
3- حامل حديدي مع ماسكة عدد 3 .
4- محلول هيدروكسيد البوتاسيوم .
5- بذور حصل فيها الإنبات وبذور جافة لم يحصل فيها إنبات.
6- ماء مقطر.

طريقة العمل :

1- توضع كمية متساوية من البذور التي حصل فيها الإنبات في دورقين ، وتوضع نفس الكمية من البذور الجافة التي لم يحصل فيها الإنبات في الدورق الثالث.

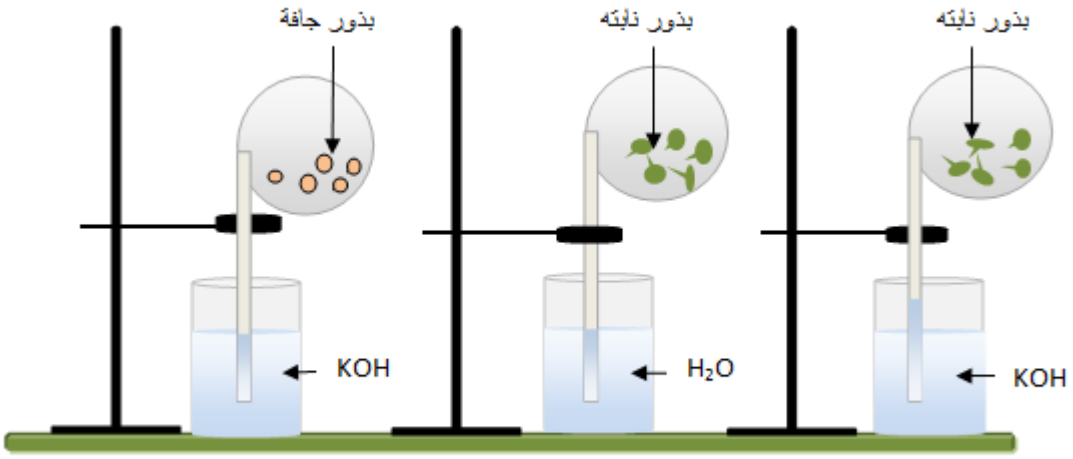
2- يتم وضع حجم معين من محلول هيدروكسيد البوتاسيوم في بيكرين أما البيكر الثالث فيوضع فيه نفس الحجم من الماء المقطر.

3- تغمس فوهة احد الدورقين الحاوية على بذور نابتة في محلول هيدروكسيد البوتاسيوم وتغمس فوهة الدورق الثاني الحاوي على بذور نابتة في البيكر الذي وضع فيه ماء بدلا عن هيدروكسيد البوتاسيوم. أما الدورق الثالث الذي يحتوي بذور جافة فتغمس فوهته في البيكر الثاني الذي يحتوي محلول هيدروكسيد البوتاسيوم. ويتم تثبيت الدوارق بإسنادها إلى الحامل الحديد المخصص لكل منها وكما في الشكل (35) . تترك التجربة بهذا الشكل فترة من الزمن سنلاحظ:

*ارتفاع مستوى هيدروكسيد البوتاسيوم في عنق الدورق الذي وضعت فيه بذور نابتة. بينما لم يحصل مثل هذه الحالة في الدورق الذي وضعت فيه بذور نابتة وتم غمر فوهته في الماء.

**قد يلاحظ ارتفاع طفيف لمستوى هيدروكسيد البوتاسيوم في عنق الدورق الذي وضعت فيه بذور جافة.

يعود السبب في اختلاف مستوى ارتفاع هيدروكسيد البوتاسيوم في عنق الدورقين إلى أن سرعة تنفس البذور التي حصل فيها الإنبات اكبر وان ما أنتجته من ثاني اوكسيد الكاربون أكثر وبالتالي امتص هيدروكسيد البوتاسيوم وحل محلها مما أعطى مؤشرا على ذلك الاختلاف أما سبب عدم ارتفاع مستوى الماء في حالة البذور النابتة الموضوعة في الدورق الثالث فيعود إلى أن كمية ثاني اوكسيد الكاربون الناتجة من تنفس البذور تعادل كمية الأوكسجين التي استهلكتها البذور كما أن الماء لم يمتص ثاني اوكسيد الكاربون كما حصل في محلول هيدروكسيد البوتاسيوم مما حافظ على مستوى ثابت للماء.



شكل (35) كيفية قياس الأختلاف في سرعة تنفس البذور النابته والتي لم يحصل فيها أنبات .

الباب السـابع

الإنزيمات The enzymes

أولا- تحضير مستخلص الإنزيم Preparation of enzyme extract

التجربة العملية :

تجربة تحضير مستخلص إنزيم الاميليز Preparation of amylase enzyme extract

المواد المطلوبة :

1- بذور حنطة في بداية الإنبات.
2- هاون خزفي .
3- رمل نقي.
4- بيكر زجاجي حجم 250 سم^3 .
5- قمع مع ورق ترشيح.
6- أنابيب اختبار.
7- محلول يود.
8- نشأ.
9- ماء مقطر.
10- جفنه زجاجية.

طريقة العمل :

1- خذ 50 بذرة حنطة حصل فيها الإنبات وضعها في هاون خزفي وضع معها قليل من الرمل الرطب واسحقها جيدا" بلطف، ثم أضف لها أربعة أمثال حجمها ماء مقطر واتركها لمدة ساعتين ثم رشح. فالراشح يمثل إنزيم اميليز نقي.

2- ضع في أنبوبتي اختبار 5 سم^3 من الراشح لكل منهما واعمل على تسخين الأنبوبة الأولى حتى غليان محتواها واترك الأنبوبة الثانية بدون تسخين.

3- حضر في أنبوبة اختبار جديدة محلول نشأ ثم خذ منه 5 سم^3 وأضفها إلى محتويات كل من الأنبوبتين السابقين ورجها برفق.

4- يؤخذ عدة قطرات من محلول الأنبوبتين وتوضع في جفنه زجاجية كل على انفراد ثم أضف إلى محتوى كل جفنه قطرات من محلول اليود **(KI)** ثم سجل ملاحظاتك للتغير الذي يحصل. فسر النتائج واكتب تقرير التجربة.

ثانيا- سرعة التفاعل الإنزيمي.

التجربة العملية

تجربة أثر تركيز المادة الأساس على معدل التفاعل الإنزيمي .

Effect of substrate concentration on the rate of enzymatic reaction.

المواد المطلوبة :

1- مستخلص إنزيم الاميليز (يمكن تحضيره كما في التجربة الأولى).
2- نشأ.
3- أنابيب اختبار عدد5 .
4- محلول اليود **KI.**
5- جفنه زجاجية عدد 5 .

طريقة العمل :

خذ 5 أنابيب اختبار وضع في كل منها 2 سم3 من مستخلص الإنزيم وعاملها كالآتي :

الأنبوبة الأولى أضف إلى محتواها 1سم3 من محلول النشأ .

الأنبوبة الأولى أضف إلى محتواها 2سم3 من محلول النشأ .

الأنبوبة الأولى أضف إلى محتواها 3 سم^3 من محلول النشأ.

الأنبوبة الأولى أضف إلى محتواها 4 سم ^{3} من محلول النشأ.

الأنبوبة الأولى أضف إلى محتواها 5 سم^3 من محلول النشأ.

* ضع جفنة زجاجية بجانب كل من أنابيب الاختبار أعلاه وانقل إلى الجفنة قطرات من محتوى الأنبوبة التي بجانبها ولجميع الجفن.

** أضف قطرتين من محلول اليود إلى كل من الجفن ولاحظ ظهور اللون. وسجل ملاحظاتك.

*** أرسم منحنى لتقدير الفعل الإنزيمي حسب التراكيز التي استعملتها في التجربة من مادة الأساس. فسر النتائج وناقشها عند كتابة تقرير التجربة.

البـاب الثـامن

منظمـات النمـو النباتيـة Plant growth regulators

إفترض العالم Sachs أواخر منتصف القرن التاسع عشر وجود المواد المنظمة لنمو النبات وتبين في السنوات اللاحقة أن معظم العمليات الفسيولوجية كإنبات البذور والنمو وتفتح البراعم ونشوء السيقان والأوراق وتكوين البراعم والجذور العرضية وتكوين الدرنات والأبصال والإزهار والثمار والبذور وسبات البذور والبراعم. ولتسهيل دراسة هذه المواد لابد من التفريق بين:

1- منظمات النمو النباتية Plant growth regulators

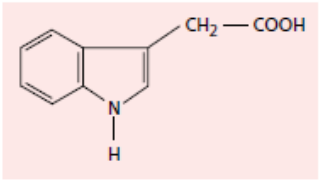
هي مركبات كيمياوية عضوية غير المغذيات مثل NO_3^- أو NH_4^+ أو K^+ قد تتكون طبيعيا" في النبات وتصنع مختبريا" تؤدي فعلها بتراكيز قليلة فقد تحفز أو تثبط أو تحور إحدى العمليات الفسيولوجية في النبات.

2- الهرمونات النباتية Phytohormons أو Plant hormones

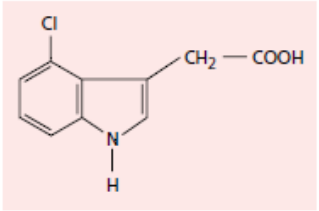
هي منظمات النمو التي تتكون في النباتات فقط وبتراكيز قليلة تحدث تأثيرها في تنظيم العمليات الفسيولوجية للنبات والهرمونات تنتقل من موضع أنتاجها إلى موقع عملها في داخل النبات ومنها الاوكسين الطبيعي IAA والجبرلين GA ولا تعتبر كل منظمات النمو العضوية هرمونات نباتية مثل 2,4-D كونها تصنع مختبريا" أو قد تكون في أجسام الكائنات الحية غير النباتية كما في السكروز وذلك لأنه يسبب النمو بالتراكيز العالية فقط.

أولا- الاوكسينات Auxins

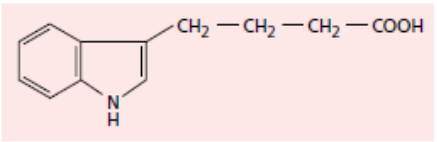
هي مجموعة من مركبات محفزة للنمو واغلبها من نوع Indoles مثل Indoleacetaldehyde و Indole و pyruvic acid و Indoleacetonitrile



Indole-3-acetic acid (IAA)

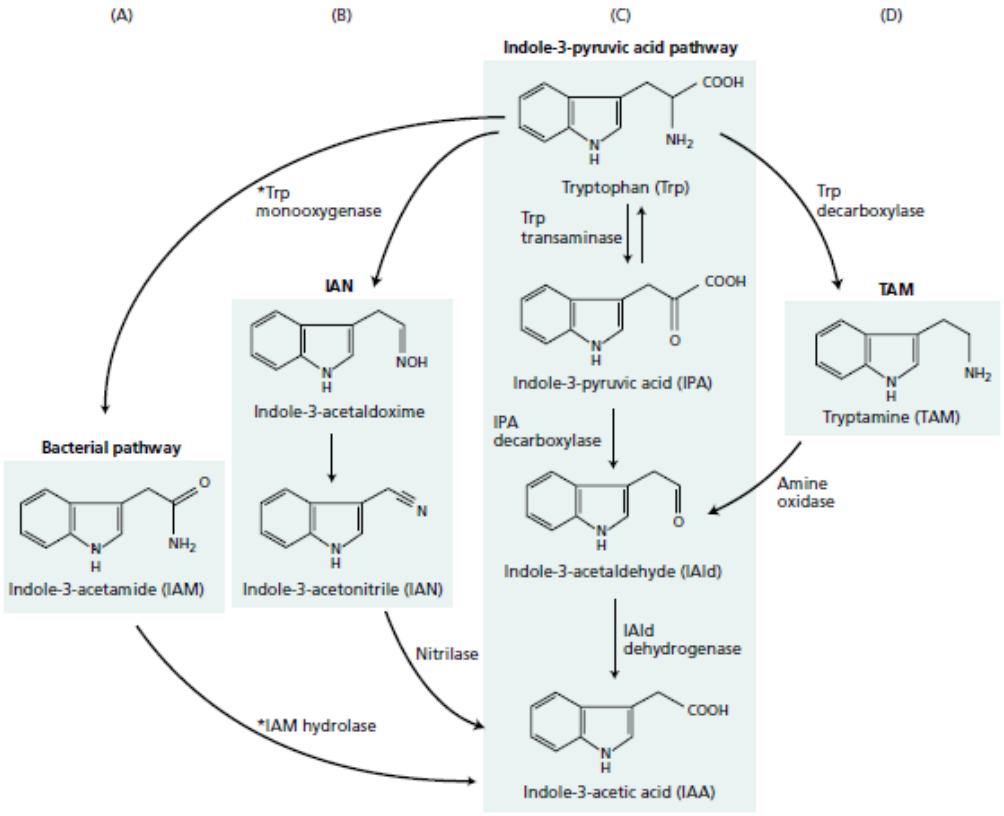


4-Chloroindole-3-acetic acid (4-Cl-IAA)



Indole-3-butyric acid (IBA)

وترجع فعالية هذه المركبات إلى تحولها إلى Indole acetic acid (IAA) حيث يعتقد بان المركب الأول والثاني هما من المركبات الوسطية أثناء تحول الحامض الاميني Tryptophan. أما المركب الأخير فقد تم عزله من عدة أنواع نباتية خاصة نباتات العائلة الصليبية وافترض انه احد أنواع الاوكسين الطبيعي في النبات. كما أن مركب Tryptamine الذي اكتشف كمادة طبيعية في أنسجة النبات فهو الآخر قد افترض كونه مركب وسطي أثناء تكوين الـ IAA .



وأظهرت الأبحاث أن الاوكسين ينظم تركيزه في النبات ويتواجد في الأنسجة النباتية بإحدى الحالات التالية :

1- اوكسين حر Free Ausin يمكن فصله بسهولة بعملية الانتشار.

2- اوكسين مرتبط Bound Auxin يرتبط هذا النوع ببعض المواقع الخلوية كالسايتوبلازم وهو الشكل الفعال والمؤثر في نمو النبات ويصعب فصله ويحتاج ذلك إلى مذيبات عضوية.

3- اوكسين يتحول إلى مشتقات لها علاقة بالاوكسين.

4- اوكسين يتهدم إنزيميا" بفعل الإنزيم IAA oxidase إلى مركبات بسيطة .

تأثيرات الاوكسينات

1- تأثير الاوكسين على الإحساس والحركة في النبات.

2- تحفيز استطالة الخلايا.

3- تحفيز انقسام الخلايا وتكوين الكالس.

4- عرقلة نمو واستطالة الجذور.

5- السيادة القمية ومنع نمو البراعم الجانبية.

6- تثبيط تساقط الثمار قبل الجني.

7- تحفيز نمو الثمار والعقد العذري للثمار.

8- تحديد الجنس وزيادة الأزهار الأنثوية.

9- تحفيز نقل المواد الحيوية.

10- زيادة معدل التنفس وتحفيز الاثلين.

11- التراكيز العالية تستعمل كمبيدات أدغال.

12- الحد من طول مدة السكون.

إستخلاص وفحص الاوكسينات Extraction and Bioassay of Auxins

توجت محاولات العاملين في فسيولوجيا النبات استخلاص الاوكسين بالنجاح وذلك باستعمال المذيبات المناسبة مثل الايثر الاثيلي البارد أو الكحول الاثيلي البارد أو الكلوروفورم البارد. مع الأخذ بالاعتبار تركيز المستخلص بعملية التبخير بعدها يحمل إلى مكعب الجيلاتين. كما يمكن الحصول على الاوكسين وذلك بأخذ مكعب جيلاتين Agar يتم وضعه بتماس مع القطع للعضو النباتي مباشرة بعد القطع وذلك للحصول على الاوكسين المنتشر Diffusible auxin من العضو النباتي إلى مكعب الجيلاتين .

التجربة العملية:

تجربة أثبات فعل الاوكسين في عرقلة نمو الجذور.

Demonstrate of Auxin action on roots growth inhibits.

المواد المطلوبة :

1- بذور نبات رشاد. 2- أطباق بتري، ورق ترشيح وشفرة قطع أو مشرط.

3- اوكسين صناعي. 4- ماء مقطر.

5- مكعب جيلاتين (هلام). 6- نباتات شوفان أو شعير.

توجد الاوكسينات بتراكيز ضئيلة جدا" في الأنسجة النباتية بحدود 10 مايكروغرام / كغم وزن طازج من نسيج النبات وأعلى هذه التراكيز تتكون في القمم النامية للأعضاء النباتية السيقان والجذور والأوراق. ومن المعلوم أن الجذور هي أكثر حساسية للاوكسين مقارنة بالسيقان ومع ذلك فقد يتحفز نمو الجذور بالتراكيز الواطئة للاوكسين كما في التراكيز الموجودة في المستخلص النباتي.

طريقة العمل :

1- خذ ثلاثة أطباق بتري ضع في كل واحد منها ورقة ترشيح ورطبها بالماء المقطر المعقم، ثم عقم 15 بذرة لنبات الرشاد Cress وضع 5 بذور في كل طبق ثم أودعها في حاضنة حتى حصول الإنبات.

2- أقطع القمم النامية لنباتين من الشوفان وضع مكعب جيلاتيني فوق منطقة القطع لكل نبات وانتظر لمدة ساعتين ثم انقل هذا المكعب إلى الطبق رقم 1بحيث يكون سطح مكعب الجيلاتين الذي حمل عليه الاوكسين على سطح بذور الرشاد.

3- حضر محلول من احد الاوكسينات الصناعية تركيزه 1 جزء بالمليون وضع حجم 5 مل منه في الطبق رقم 2حول البذور النابتة.

4- أضف 5 مل ماء مقطر معقم للطبق رقم 3 .

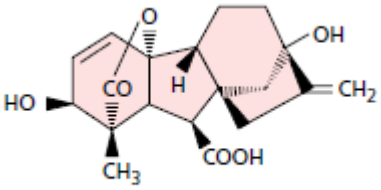
5- ضع الأطباق في الحاضنة وانتظر لمدة 72 ساعة. سجل ملاحظاتك حول طول الجذور، فسر النتائج عند كتابة التقرير.

ثانيا"- الجبرلينات Gibberellins

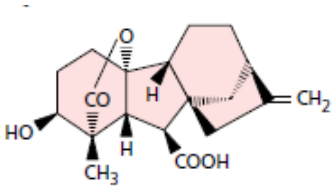
المجموعة الثانية من منظمات النمو النباتية تكتشفها العالم الياباني Kurosawa عندما لاحظ أن نباتات الرز المصابة بالفطر Gibberella fujikuroi تنمو بشكل أسرع من نمو النباتات غير المصابة بهذا الفطر. كما

اكتشف العالم Phinney أن المستخلص الايثري لبذور الخيار البري يحوي مواد تحفز النمو بنفس الطريقة التي يعمل بها الجبرلين.

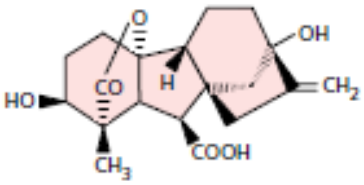
تنتمي الجبرلينات إلى مجموعة المركبات المسماة Terpenoids المتكونة من أربعة مجاميع من Isoprene units ، ويرجع الاختلاف بين أنواع الجبرلينات إلى الأواصر غير المشبعة في الحلقة الأولى والى عدد مواقع مجاميع الهيدروكسيل أو ما يعوضها إضافة إلى عدد مجاميع الكاربوكسيل وتعتبر أنواع الجبرلينات **GA_3** و **GA_4** و **GA_7** الأكثر استعمالا في التطبيق الحقلي.



Gibberellic acid (GA_3)



Gibberellin A_4 (GA_4)



Gibberellin A_1 (GA_1)

تأثيرات الجبرلينات

1- تحفيز استطالة الخلايا والتغلب على التقزم الوراثي.

2- كسر طور سكون البذور والبراعم.

3- تحفيز تكوين الثمار العذرية.

4- زيادة الأزهار الذكرية.

5- تحفيز تكوين الإنزيم α – amylase .

الفحص الحيوي للجبرلين Gibberellin bioassay

أن اقل تركيز من الجبرلين تستجيب له النباتات بصورة واضحة هو $(10^{-5}M)$. وتعتبر الكلفة المرتفعة للجبرلينات احد العوامل المحددة لاستعمالها على النطاق التجاري مقارنة باستعمال الاوكسينات. ولإثبات فعل الجبرلين حيويا" يمكن تنفيذ التجربة الآتية:

التجربة العملية

تجربة أثبات فعل الجبرلين في تحفيز أنزيم α – amylase .

المواد المطلوبة :

1- بذور نبات شعير. 2- محلول هايبوكلوريد الكالسيوم CaOCl أو هايبوكلوريد الصوديوم NaOCl .

3- بيكر حجم 100 مل عدد . 4- محلول جبرلين بتركيز 10- 20 جزء بالمليون.

5- كحول اثيلي مطلق أو 95%. 6- جهاز المكسر الضوئي Hand refractometer.

طريقة العمل :

1- عقم 40 بذرة شعير باستعمال محلول هايبو كلوريد الكالسيوم أو الصوديوم.

2- اقطع بذور الشعير بصورة عرضية واحتفظ بالأنصاف التي تحوي على الاندوسبيرم.

3- حضر محلول جبرلين بإذابة 0.1 غم من بلورات الجبرلين النقي في قطرات قليلة من الكحول الاثيلي ثم أكمل الحجم إلى حد علامة لتر للدورق الحجمي بالماء المقطر لتحصل على تركيز قدره 100 جزء بالمليون.

4- حضر 4 بيكرات ضع في كل واحد منها 10 أنصاف بذور حاوية على الاندوسبيرم .

5- خذ حجم 20 مل من محلول الجبرلين وأضفه إلى محتويات البيكر الأول.

6- خذ حجم 10 مل من محلول الجبرلين وأضفها إلى محتويات البيكر الثاني وأضف إليها أيضا 10 مل ماء مقطر.

7- خذ حجم 1 مل من محلول الجبرلين وأضفه إلى محتويات البيكر الثالث وأضف إليها 19 مل ماء مقطر.

8- خذ حجم 20 مل ماء مقطر وأضفها إلى محتويات البيكر الرابع.

9- استخدم جهاز المكسر الضوئي لقياس % للمواد الصلبة الذائبة الكلية لكل بيكر وثبت القراءة في ملاحظاتك.

10- اترك التجربة تحت ظروف المختبر (درجة حرارة 25 **°** م) لمدة 24 – 48 ساعة ، مع ملاحظة تغطية البيكرات لتقليل التبخر.

11- استعمل جهاز المكسر الضوئي لقياس % للمواد الصلبة الذائبة الكلية لكل من محتويات البيكرات وثبت القراءة. اوجد الفروق عما كانت عليه عند بدء التجربة والاختلاف بين المعاملات .

أكتب تقرير التجربة وفسر النتائج .

التجربة العملية :

تجربة أثر الجبرلين في كسر طور سكون البراعم.

Gibberellin effect on the buds dormancy breaking.

المواد المطلوبة :

1- درنات بطاطا عدد 10 درنات متوسطة الحجم متماثلة قدر المستطاع.

2- محلول جبرلين بتركيز 5 جزء بالمليون.

3- بيكر حجم 1 لتر عدد 2 .

طريقة العمل :

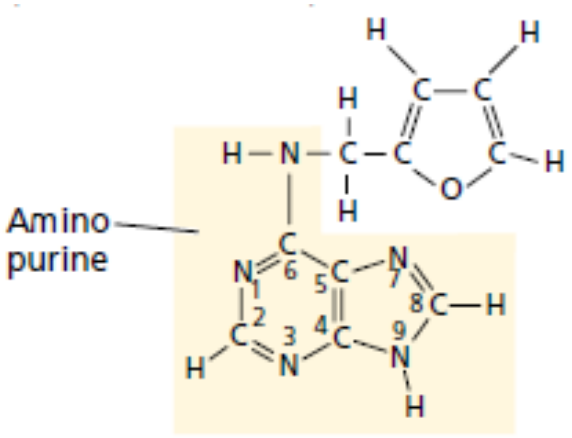
1- ضع 5 درنات بطاطا في كل من البيكرين.

2- أضف حجم محلول الجبرلين إلى البيكر الأول بحيث يغطي الدرنات ، وأضف ماء فقط إلى البيكر الثاني وبنفس المستوى واتركها لمدة 20 دقيقة ثم استخرجها.

3- ضع الدرنات في موقع يضمن فيه توفير درجة حرارة 18 – 20 **°**م مع إضاءة متوسطة بعيدا" عن تيارات الهواء واتركها إلى الأسبوع التالي . سجل ملاحظاتك واكتب التقرير وفسر النتائج.

ثالثا"- السايتوكاينينات Cytokinins

تلعب السايتوكاينينات دور المفتاح في حياة النباتات الراقية ، وهي مواد تحفز انقسام الخلية وتظهر فعل منظمات النمو الأخرى بنفس السلوك مثل الكاينتين الذي تم عزله من مني الـ DNA المورث حيث وجد انه يحتوي على الكاربون والهيدروجين والنتروجين والأوكسجين بنسبة $C_{20}H_9N_5O$ وقد أمكن استخلاص أنواع من السايتوكاينينات الطبيعية من حليب جوز الهند وعصير الطماطة والحبوب غير الناضجة للذرة الصفراء وثمار العرموط والأجاص وعدد كبير من النباتات.



Kinetin

تأثيرات السايتوكاينين

1- انقسام الخلايا.
2- توسيع الخلايا.
3- تكوين الأعضاء.
4- كسر طور السكون .
5- تشجيع نمو البراعم الجانبية وتقليل السيادة القمية.
6- تأخير الشيخوخة.
7- زيادة بناء الحامض النووي RNA ومعدل بناء البروتين.

الفحص الحيوي للسايتوكاينين Bioassay of Cytokinins

تعد السايتوكاينينات الابطأ حركة في النسيج النباتي مقارنة بمنظمات النمو الأخرى فتقدر حركتها 4.5 مليمتر كل 24 ساعة ويزداد تأثيرها فاقترانها مع الاوكسينات ويمكن التحقق من فعاليتها من خلال تنفيذ التجربة .

التجربة العملية :

تجربة أثر السايتوكاينين في زيادة فاعلية نقل المواد الغذائية إلى المنطقة المعاملة.

Effect of cytokinins on the movement of nutrient substances to the area treated with it.

المواد المطلوبة :

1- نبات نامي في سندانه.
2- محلول سايتوكاينين بتركيز من20- 30 جزء بالمليون.
3- مادة ناشرة Tween 20 أو مسحوق غسيل.
4- محلول اليود **I** في ايوديد البوتاسيوم **K_2I**.
5- بيكر حجم 50 مل عدد 2 .

طريقة العمل :

1- حضر محلول السايتوكاينين وأضف له قطرة من المادة الناشرة في البيكر الأول وفي البيكر الثاني خذ نفس الحجم من الماء المقطر وأضف له قطرة من المادة الناشرة.

2- اختر ورقتين نشطتين على كل من النباتين وضع عليها علامة ثم اطلي السطح العلوي لورقتي النبات الأول بمحلول السايتوكاينين ، أما ورقتي النبات الثاني فتطلى بالماء والمادة الناشرة فقط.

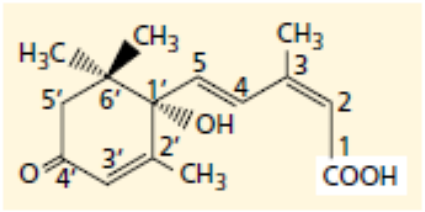
3- ضع النباتين في موقع مشمس لمدة ساعتين ثم انقلها إلى موقع مظلم لاستنزاف المواد المصنعة.

4- اكشف عن النشأ كما سبق شرحه باستعمال محلول اليود بعد قتل الأوراق بالماء المغلي.

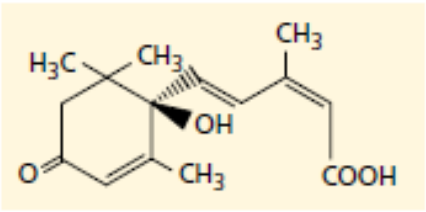
سجل ملاحظاتك وفسر النتائج عند كتابة التقرير.

رابعا"- حامض الابسسك Abscissic acid (ABA)

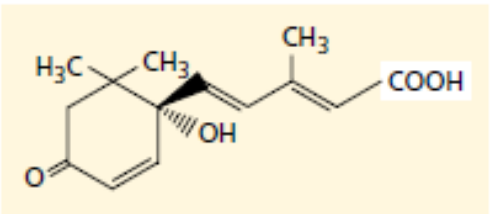
هو احد مثبطات النمو التي تتواجد طبيعيا" في النبات وتؤثر في نموه وبتركيز قليل جدا" بحدود 1 جزء بالمليون ، أما بناءه الحيوي فقد يتكون من الميفالونيت Mevalonate كما في الجبرلين وقد يكون هناك مسار آخر لبناء حامض الابسسك فقد يتكون من الزانثوفيل Xanthophyll مثل Violaxanthin حيث يتكسر إلى جزأين كل منها متكون من 15 ذرة كاربون كل منها شبه للـ ABA .



(S)-*cis*-ABA (naturally occurring active form)

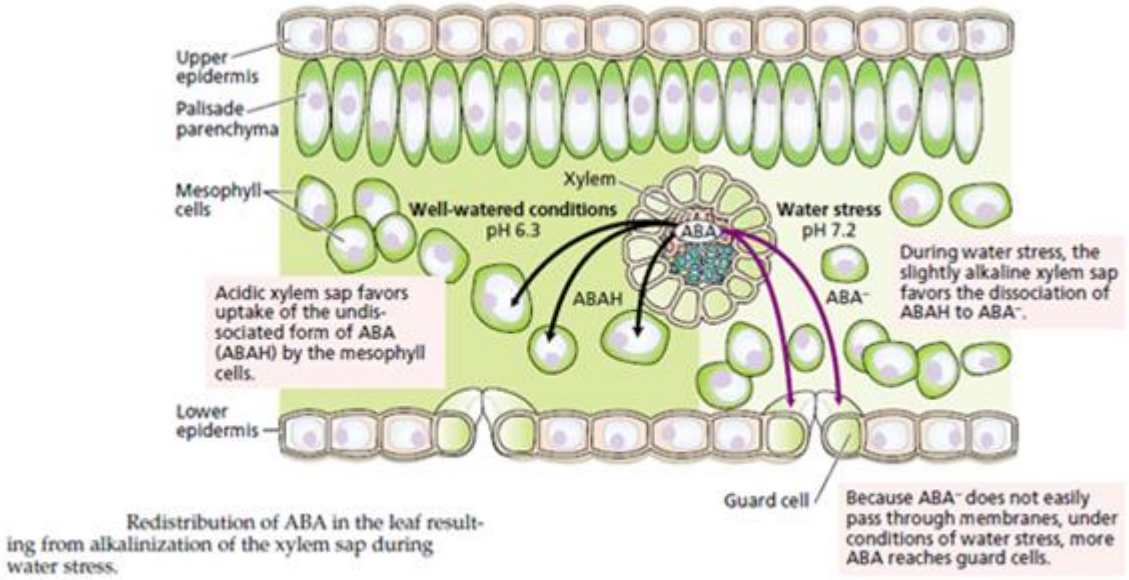


(R)-*cis*-ABA (inactive in stomatal closure)



(S)-2-*trans*-ABA (inactive, but interconvertible with active [*cis*] form)

ينتقل حامض الابسسك في كل من عصارة الخشب واللحاء ويتحرك بسرعة 20–30 مليمتر / ساعة وحركته غير قطبية. كما أن أعادة توزيعه في الورقة ينتج عن قلوية عصارة الخشب بسبب الأجهاد المائي .



شكل (36) أعادة توزيع حامض الأبسسك خلال نسيج الورقة ، عن Taiz and Zeiger (2006)

تأثيرات حامض الابسسك

1- أحداث السكون في البراعم والبذور.
2- تحفيز الشيخوخة.
3- تسريع الانفصال.
4- نشوء الأزهار في النهار الطويل.

التجربة العملية : الفحص الحيوي لحامض الابسسك ABA bioassay

تجربة أثبات فعل حامض الابسسك في تثبيط إنبات البذور.

Demonstration ABA action on inhibit seeds germination.

المواد المطلوبة :

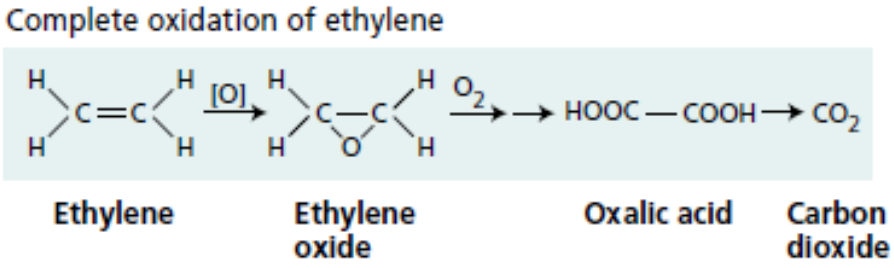
1- بذور نبات الخس.
2- محلول حامض الابسسك بتركيز 10 – 20 جزء بالمليون.
3- بيكر حجم 100 مل عدد 2 .
4- أطباق بتري عدد 2 مع ورق ترشيح.
5- ماء مقطر .
6- محلول هايبوكلوريد الكالسيوم CaOCl أو هايبوكلوريد الصوديوم NaOCl .

طريقة العمل :

1- خذ عدد 20 بذرة من نبات الخس وعقمها بأحد محاليل التعقيم.
2- ضع 10 بذور في البيكر رقم 1 ثم أضف لها 50 مل من محلول حامض الابسسك.
3- ضع 10 بذور أخرى في البيكر رقم 2 وأضف لها 50 مل ماء مقطر اتركها لمدة 6 ساعات ثم انقل كل مجموعة إلى طبق بتري بعد وضع ورقة الترشيح داخله وترطيبها وانشر البذور فوقها ثم ضع الأطباق في منبته Germinator. راقب الانبات وسجل سرعة ونسبة الانبات ، اكتب تقريرك وفسر النتائج.

خامسا"- الأثلين Ethylene

تم اكتشاف الاثلين كهرمون نباتي عام 1901 فهو ناتج طبيعي يتكون أثناء نضج الثمار كما يتكون في البذور والاورق والأزهار والجذور فهو يتحرر من البذور النامية والثمار الناضجة بمعدل يتراوح من 0.5 نانولتير/غم/ ساعة والاثلين يتحرك داخل نسيج النبات بعملية الانتشار خلال المسافات البينية أو خلال الأغشية بسبب علاقته بالمركبات الدهنية. الاثلين ربما يتكون من الميثونين Methionine بوجود الأنزيمين Transaminase والـ Peroxidase أو بوجود FMN والضوء والـ Peroxidase وفي كلتا الحالتين يستهلك بيروكسيد الهيدروجين ، وتبدأ الفعالية الحيوية للاثلين من تركيز 0.1 جزء بالمليون حسب أختبار الأنحناء في البزاليا Pea curvature test .



تأثيرات الاثلين Ethylene $CH_2 = CH_2$

1- يحفز بعض العمليات التي تؤدي إلى النضج.
2- تثبيط استطالة الساق والجذور والأوراق.
3- يثبط نمو البراعم الجانبية ويسبب السيادة القمية.
4- تحفيز الأزهار.
5- يحدد الجنس حيث يزيد الأزهار الأنثوية.
6- يسبب الشيخوخة ويسرع الانفصال.

التجربة العملية : الفحص الحيوي للأثلين

تجربة تأثير الأثلين في إنضاج الثمار.

المواد المطلوبة :

1- ثمار بالغة خضراء اللون مثل تفاح، موز.
2- مادة اثرل Ethrel التي تحرر الاثلين.
3- أوعية محكمة الغلق (دسكيتر).
4- جهاز قياس صلابة الثمار.
5- صبغة دليل الفينونفثالين.
6- جهاز قياس النسبة المئوية للمواد الصلبة الذائبة Hand refractometer.
7- محلول هيدروكسيد الصوديوم 0.5 عياري.
8- سحاحة مع بيكر وحامل حديدي وماسكة.
9- خلاط كهربائي مع شفرة قطع وقماش ململ للترشيح.

طريقة العمل :

1- خذ ثمرة واحدة وافحص درجة صلابتها باستعمال جهاز قياس الصلابة. ثم اقطع الثمرة بالشفرة واهرسها جيدا" باستعمال الخلاط الكهربائي ثم رشح المحتويات. خذ قطرة من الراشح وقدر النسبة المئوية للمواد الصلبة الذائبة الكلية باستعمال جهاز المكسر الضوئي. خذ 10 مللتر من عصير الثمرة ضعه في بيكر ثم املأ السحاحة بمحلول هيدروكسيد الصوديوم معلوم العيارية ، أضف قطرتين من دليل الفينونفثالين على العصير في البيكر وابدأ

بالتسحيح حتى يبدأ تغير لون العصير إلى اللون الوردي الفاتح. توقف واحسب كمية هيدروكسيد الصوديوم التي استهلكت في التسحيح.

2- حضر وعائين ضع في الوعاء الأول 500 مللتر من محلول الاثرل تركيز 5 جزء بالمليون وأضف له مادة ناشرة مثل Tween 20 أو مسحوق الغسيل لتقليل الشد السطحي للمحلول وغطس فيها ثمرتين لمدة 5 دقائق ثم أخرجها وتخلص من الماء العالق ثم ضعها في وعاء محكم. في الوعاء الثاني ضع ماء فقط وأضف له مادة ناشرة ثم غطس فيه ثمرتين وأخرجها وضعها في وعاء آخر واحكم غلقه. أترك التجربة تحت ظروف المختبر (درجة الحرارة 20 °م) إلى الأسبوع القادم. ثم اجري نفس العمليات والقياسات وقارن النتائج وسجل الملاحظات ثم فسر النتائج عند كتابة التقرير.

الباب التاسع

تقدير بعض الصفات الطبيعية (الفيزيائية) والكيميائية للثمار

يبدء نمو الثمار بعد عملية العقد **Fruit set** ويستمر حتى مرحلة أكتمال نموها ويرافق ذلك تغيرات في الصفات البنائية والتركيبية للثمار. كما تستمرهذه التغيرات حتى بعد القطف وأثناء الخزن .أذ يمكن الأستدلال من هذه الصفات على مرحلة أكتمال النمو ومراحل النضج المختلفة لكل نوع من أنواع الثمار وبالتالي تحديد أنسب درجة للقطف أو أنسب موعد للقطف . وتستخدم الصفات الطبيعية والكيمياوية للثمار كأساس في تحديد درجة جودتها ، لذا يعد من الضروري التعرف على بعض طرق أختبار تلك الصفات للثمار .

أولآ : تقدير الصفات الطبيعية : Physical – Indices

(1) معدل وزن الثمرة Fruit weight rate

يمكن تحديد وزن الثمار أثناء مراحل النمو ويتم تثبيت الزيادة في الوزنحتى تصل الى مرحلة التوقف في زيادة الوزن المحدد للصنف. ويتم ذلك من خلال أخذ عينة كافيه من الثمار بحيث تمثل مجموعة الثمار التي يراد أختبارها تمثيلاً تاماً ، بعدها يتم وزنها ثم يقدر بعد ذلك متوسط وزن الثمرة الواحدة حسب المعادلة التالية :

معدل (متوسط) وزن الثمرة الواحدة (غرام) = مجموع وزن الثمار ÷ عدد ثمار العينة .

(2) معدل حجم الثمرة Fruit size rate

يمكن تحديد حجم الثمار كما في طريقة معرفة وزن الثمرة ويتم تقدير حجم الثمار بأعتماد القاعدة التي تنص على أن كل جسم يغمر في سائل يزيح من ذلك السائل حجماً يساوي حجمه ، لذلك يستخدم وعاء ذو فتحة جانبيه عند نهايته العليا يتم ملؤه بالماء حتى يصل مستوى الماء الى الفتحة الجانبية ويخرج منها ثم تترك برهه لكي يستقر الماء ويتوقف خروجه من الفتحة الجانبية العلوية ، بعدها يتم وضع أسطوانة مدرجة أسفل الفتحة ثم يتم وضع الثمار المراد قياس حجمها برفق في الوعاء المملوء بالماء مما يؤدي الى أرتفاع سطح الماء وخروجه من الفتحه الجانبية ويستمر خروج الماء حتى يساوي حجم الثمار التي وضعت فيه ، بعدها يقاس الماء.

معدل حجم الثمرة (سنتيمتر^3)= حجم الماء المزاح ÷ عدد ثمار العينة .

(3) معدل أبعاد الثمرة والتي تتضمن معدل طول الثمرة Fruit length rate و معدل قطر الثمرة Fruit diameter rate :

تستخدم ألة القدمة **Verniar** في قياس أبعاد ثمار العينة وبعد ذلك يستخرج المعدل لكل بعد من تلك الأبعاد .

المعدل = المجموع ÷ العدد .

(4) تقدير لون الثمار Fruit colour : يشمل ذلك :

لون قشرة الثمرة **Skin colour** والعصير **Juice colour** واللب (لحم الثمرة) **Flesh colour** ولون البذور **Seed coloure**. أذ يلاحظ تحول لون القشرة والبذور لبعض الانواع عند مرحلة النضج الى ألوان مغايرة للون الثمرة الذي كانت عليه في مرحلة النمو كما في تحول اللون الاخضر لثمار التفاح الى اللون الاحمر أو الاصفر وتحول لون لب الثمرة الى اللون الأصفر الغامق كما في ثمار المشمش أو تحول لون البذور الى اللون الداكن كما في التفاح والخوخ والمشمش . ويقدر اللون بعدة طرق منها :

(أ)– العين المجردة : تعد هذه الطريقة من الطرق الوصفية التقريبية التي تختلف نتائجها بأختلاف الاشخاص القائمين بالتقدير.

(ب)– لوحات ألالوان القياسية : **Colour charts** تعتمد هذه الطريقة على الوان محددة لها أرقام وأسماء عالمية مسجلة وطبوعة على لوحة من الورق المقوى بشكل مربعات يظهر في الموقع الأسفل مربع اللون الكامل ألأساسي ويليه مربعات يكون لونها تخفيفات للون الأساسي بالتدريج .

(ج)– ألأجهزة الضوئية : تستخدم أجهزة ضوئية خاصة تعتمد في قياسها للون أما على مدى أنعكاس الضوء **Light Reflection** من المواد أو على مرور الضوء خلال تلك المواد **Light Transmission** ومن ألأجهزة المستخدمة لهذا الغرض جهاز **Colour meter** .

(5) الكثافة النوعية Specific Gravity تعد من مقاييس النضج ويتم تقديرها عن طريق معرفة وزن الثمار ثم قياس حجمها . أن الثمار الناضجة تَغطس بالماء لأنها تحتوي على نسبة عالية من المواد الصلبة الذائبة بينما تطفو الثمار غير الناضجة فهي قليلة الكثافة . ويتم تقدير الكثافة النوعية بعدة طرق نذكر منها الطريقة الأبسط :

الكثافة النوعية = وزن الثمرة ÷ حجم الثمرة

(6) صلابة الثمار Fruit Firmness

يستخدم لقياس صلابة الثمار أجهزة يدوية يمكن من خلالها تقدير صلابة الثمرة بقشرتها أو بعد أزالة القشرة وتستخدم هذه الاجهزة لتقدير صلابة الثمار اللحمية والثمار ذات القشرة الجلدية ولا تستخدم للثمار ذات القشرة الاسفنجية كما في ثمار الحمضيات ومن الأجهزة المستخدمة :

جهاز أختبار الضغط **Pressure tester** – يعتبر هذا الجهاز من أول الأجهزة اليدوية التي أستخدمت لتقدير صلابة الثمار .يتركب هذا الجهاز من ثاقب معدني يختلف قطره بأختلاف الثمرة المراد قياس صلابتها وهذا الثاقب يتركب من الذراع الثاقب المثبت بنابض الضغط داخل أسطوانة معدنية بحيث يتحرك الذراع الى الداخل عند الضغط ويوجد على الذراع مسمار بارز يتحرك بحركة الذراع داخل فتحة طولية على جانبي الأسطوانة المدَرجَة بوحدات كيلوغرام/ سنتيمتر^2 أو طن / قدم ^{2} فعندما يضغط الثاقب على جدار الثمرة يتحرك المسمار البارز الى الاسفل ويدفع معه حلقة معدنية (مؤشر)مثبته حول الاسطوانة حتى يثقب الثاقب فيعود المسمار الى مكانه في أعلى التدرج وعندها يقف المؤشر عند تدرج معين وهذه القيمة للتدرج هي الدالة على صلابة الثمرة .

(7) نسبة العصير Juice percent

تُعد هذه الصفه من الصفات الهامة التي يستعان بها في تقدير وصول بعض الثمار الى مرحلة أكتمال النضج كما في الليمون واللالنكي (اليوسفي) ويتم تقدير نسبة العصير الى الثمرة الكاملة أما بالوزن أو بالحجم وذلك بعصر الثمرة بأحد العاصرات المختلفة يدوية كانت أم كهربائية ثم يصفى العصير بمنخل ذو فتحات دقيقة (أو بقطعة قماش من الشاش) ويقاس حجم العصير أو يتم وزنه بعدها ينسب الى حجم الثمرة أو الى وزنها ثم يحسب كنسبة مئوية وكما يأتي :

النسبة الئوية للعصير = وزن أو حجم العصير ÷ وزن أو حجم الثمرة × **100**

(8) الاختبارات الحسيه – تتضمن الأختبارات الأخرى التي تعتمد على حواس الأنسان مثل الطعم والرائحة والنكهه واللون :

(أ)– **الطعم Taste** ويتم تقديره أما :

حلو – هذا يتوقف على محتوى الثمار من السكريات كما في ثمار الموز والعنب والتمر .
مالح – وهذا يتوقف على محتوى الثمار من كلوريد الصوديوم كما في ثمار الزيتون .
حامض – هذا يتوقف على المحتوى من الأحماض العضوية مثل حامض الستريك **Citric acid** وحامض الترتاريك **Tartaric acid** وحامض الماليك **Malic acid** .
قابض – (**Astringency**) ينتج عن المركبات الفلافونية يتوقف على مقدار ما تحتويه الثمار من التانينات **Tannins** كما في ثمار التمر غير الناضج وفي ثمار الرمان .
مر – (**Bitter**) ينتج عن مركبات الفلافونات **Flavanones** ومنها النوعين اللذين يتكونان بكثرة في ثمار الحمضيات وهما كلايكوسيد الهيسبرتن **Hesperitin** والنارنجنين **Naringenin** المسؤول عن الطعم المر في ثمار الكريب فروت والنارنج وال **Cucurbitacins** في ثمار القرعيات وال **Oleuropein** في ثمار الزيتون وجميع هذه المركبات تزول تدريجياً كلما تقدم نضج الثمار .
غير مقبول – هذا يتوقف على فعل الانزيمات كما في الثمار المتخمره أو الثمار المخزونه لمدة طويلة مع ثمار أخرى مختلفة الأنواع كما في خزن التفاح مع البصل .
(ب)– الرائحة Odoriferous يعود الأحساس بالرائحه الى المركبات الطياره (**Volatile Odoriferous**) المحفزه لحاسة الشم (**Olractory**) مثل الزيوت العطريه والأسترات والكحولات والحوامض والألديهايدات والكيتونات وأن الكثير من هذه المركبات هي مشتقات من التربينات الهايدروكاربونية أو من الكحول أوالحوامض الأليفية **Aliphatic acids** .
(ج)– النكهه : عبارة عن الأنطباع الذي يتولد لدي الأنسان نتيجة لأشتراك أكثر من حاسة في تحديد قبول أو رفض أستساغة مادة معينة ، مثل تفاعل حاستي التذوق والشم (عوامل الطعم والرائحة) أو تفاعل حاستي النظر والتذوق(عوامل اللون والطعم) مع بعض المركبات التي تحتويها المواد.
(د)– اللون The colour يرتبط اللون بمسبباته والتي هي :
1 – اللون الأخضر: ينتج عن صبغة الكلوروفيل في الثمار الخضراء وبعض الثمار الناضجة مثل الزيتون .
2 – اللون الأصفر والبرتقالي : يعزى الى صبغة الكاروتين وصبغة الزانثوفيل كما في ثمار الأجاص والمشمش والموز .
3 – اللون الحمر : يعزى الى صبغتي اللايكوبين والأنثوسيانين كما في ثمار الشليك .
4 – اللون الأزرق أو البنفسجي : يعزى الى صبغة الأنثوسيانين كما في البنجر .
5 – اللون البني أو الأسود : يعزى الى صبغة الأنثوسيانين مع مركبات فينوليه أخرى كما في الباذنجان .

(9) أختبارات نضج البذور Examines of seeds maturity

كثير من الثمار يكتمل نضج بذورها عند وصول الثمار الى مرحلة أكتمال النمو أذ تتكون بعض الصفات المميزه التي يستعان بها للتأكد من وصول الثمار الى مرحلة أكتمال النمو مثال على ذلك تحول الغلاف الداخلي **Endocarp** لثمار الخوخ الى اللون الأحمر . كذلك تحول بذور الطماطه الى اللون الأصفر الفاتح أضافة الى تحول المادة المحيطة بها الى مادة شفافة شبه جيلاتينيه لونها أصفر برتقالي , وتحول لون بذور ثمار العنب الى اللون البني عندما تقترب من النضج , وتحول لون بذور التفاح الى اللون البنفسجي الغامق عند نضج الثمرة .

ثانياً – الصفات الكيميائية Chemical properties

(1) تقدير قيمة ال pH في عصير الثمار :

يستخدم رمز ال **pH** كتعبير عن لوغارتم مقلوب تركيز أيون الهيدروجين في المحلول . وهو مقياس لمجموع الحموضة الفعالة في المحلول أو العصير ويعد دليل مهم على نكهة الثمار وصلاحيتها للأكل كما أن لل **pH** تأثير على متطلبات التصنيع .

pH = Log / H = log (H) .

يستخدم جهاز **pH meter** لقياس تركيز أيون الهيدروجين ذو القطب الزجاجي كطريقة معتمدة وسريعة كما أنها تعد من الطرق الأكثر دقة . أن معدل قيم **pH** ثمار الفاكهه يكون بين **2 – 5** ، أما الخضراوات غير الحامضية فيكون أكثر من **6** بقليل . يتم أعداد الجهاز للأستعمال وذلك بتحضير محلول قياسي تكون قيمة ال **pH** فيه **4** أو يتم الحصول عليه جاهزآ في المختبر ، بعدها يتم تشغيل الجهاز ويترك لمدة **15** دقيقة لكي يستقرالجهاز ثم ضع القطب الزجاجي في ذلك المحلول وثبت درجة الحرارة لتطابق حرارة المختبر . يؤخذ حجم **(10)** سم^3 من المحلول ويوضع في بيكر صغير سعته **25** سم^3 ثم أغمر فيه طرف القطب الزجاجي بحيث لا يلامس القطب قعر الدورق ورج المحلول برفق متجنباً ملامسة القطب بعدها ثبت المؤشر على القراءة **4** التي تعود لل **pH** وليس التي تعود لل **MV** . بعد ذلك قم بتحضير عصير من الثمار التي يراد قياس قيمة ال **pH** لها كما في الطريقة التي تم ذكرها سابقآ وهنا لا حاجة لأزالة لون العصير ، وضع ما مقداره تقريباً **15** سم^3 في بيكر سعته **25** سم^3 ثم أرفع القطب الزجاجي من المحلول القياسي على أن تراعي أزالة أخر قطرة على طرف القطب بمسحها بمنديل بعدها ضعه في دورق العصير ورج العصير برفق لمدة دقيقة بحيث لا يلامس القطب جوانب البيكر . ألأن سجل القراءة ، أعد العملية بتحضير عصير ثمار مختلفة الحموضه .

(2) تقدير الحموضة القابلة للتسحيح أو نسبة الحموضة :

(أ) قم بأخذ عدد ما من عينات الثمار بصورة عشوائية مراعياً أن تكون بمراحل مختلفة من النمو (ناضجة وغير ناضجة) وقم بأخذ وزن كل عينة ثم أغسل الثمار وقم بأستخراج العصير من كل ثمار ثمار عينة بأستعمال ألة عصر الثمار المتوفرة وبعد أزالة البذور

أوجد حجم العصير بواسطة أسطوانة مدرجة ولنفرضه (**V1**) بعدها رج العصير بشكل جيد ثم رشحه خلال قطعة قماش ململ (موسليني) .

(ب) أذا كان العصير عديم اللون ينقل الى دورق حجمي ويكمل الى حد العلامة بالماء المقطروليعطى الحجم الجديد رمز (**Vt**) ، أما أذا كان العصير ذو لون غامق كما في عصير العنب الاسود وعصير الرمان فبعد أكمال العصير بالماء المقطر الى حد العلامة لا بد من أزالة اللون المعتم (أجراء عملية قصر اللون) وذلك بأضافة كمية مناسبه من مسحوق الفحم **Charcoal** وخلطها بشكل جيد مع العصير المخفف ثم ترشيحه بأستعمال ورق ترشيح والتخلص من بقايا الفحم .

(ج) خذ حجم معين (**10 – 100** سم ^{3}) من العصير المخفف وليكن رمزهذا الحجم (**Vs**) وضعه في دورق أرلنماير ثم أضف أليه (**2– 5** قطرات) من محلول صبغة الفينولفثالين **Phenolphthalein** بتركيز **1** % كمادة كاشفة **Indicator** . (د) أملأ السحاحة بمحلول هيدروكسيد الصوديوم **0.1** عياري (

NaOH 0.1N) وأبدء بالتسحيح لحين تغير لون المحلول الى اللون الوردي الفاتح جداً عندها سجل حجم القاعدة **NaOH** التي أستخدمتها في التسحيح وليكن رمزها (**T**) ولأيجاد النسبة المئوية للحموضة طبق المعادلة التالية :

$$\text{Total acid \%} = \frac{T \times N \times Vt \times Eq \times 100}{Vs \times V1 \times 1000}$$

حيث أن :

T تمثل حجم القاعدة المستعملة في التسحيح . ، **N** تمثل عيارية القاعدة المستعملة في التسحيح .

Vt = الحجم النهائي للعصير بعد التخفيف . ، **Eq** = الوزن المكافىء لحامض الستريك .

Vs = حجم العصير المستعمل قي التسحيح . ، **V1** = حجم العصير قبل التخفيف .

1000 في المقام لتكون النتيجة بالغرامات .

العيارية : هي عدد الأوزان المكافئه الغراميه من المادة المذابه في لتر واحد من محلولها ويرمز لها بالحرف العربي (ع) والانكليزي **(N)**

المحلول العياري : هو المحلول الذي يحتوي اللتر الواحد منه على وزن مكافىء غرامي واحد من المادة المذابه فيه .

التركيز الغرامي : يمثل عدد غرامات المادة المذابه في لتر واحد من محلولها ، ووحداته غم / لتر .

التركيز = غم وزن مادة مذابة ÷ سم^3 حجم محلولها × **1000**

العيارية = التركيز ÷ الوزن المكافىء = وزن المادة ÷حجم محلولها × **1000** ÷ وزنها المكافىء

أذن : وزن المادة ÷ مكافئها = حجم محلولها × عياريتها ÷ **1000**

عدد ألاوزان المكافئه الغراميه للمادة الأولى = عدد الأوزان المكافئه الغراميه للمادة الثانية

الأحماض القابله للتسحيح

(أ) حامض الخليك **Acetic acid**

(ب) حامض الأوكزاليك **Oxalic acid**

(ج) حامض السكسونيك **Succinic acid**

(د) حامض الفيوماريك **Fumaric acid**

(هـ) حامض الستريك **Citric acid** (وزنه الجزيئي **64**) يسود في الحمضيات والطماطة والفلفل والكرفس .

(و) حامض الماليك **Malic acid** (وزنه الجزيئي **67**) يسود في التفاح والسفرجل .

(3) تقدير مجموع المواد الصلبة الذائبة : Total Soluble Solids (TSS)

بعد أن يتم تحضير عدد من عينات العصير من ثمار مختلفة في درجة نضجها وترشيحه من خلال قطعة قماش ململ (موسليني) يستخدم جهاز المكسر الضوئي اليدوي **Hand Refractometer** وذلك بتنظيف الزجاجه الخاصه بالعينة (الموشور) بالماء القطر ثم تخليصها من الماء المتبقي عليها بأستعمال ورق تنشيف ، بعدها ضع قطره من العصير على الموشور وأعد الغطاء الى الزجاجة ثم أنظر من خلال العدسة العينيه في

الطرف الثاني من الجهاز وأقرء النسبة المئويه للمواد الصلبة الذائبة **TSS %** بمعنى أن هذه النسبة تبين مقدار المواد الذائبة في عصير الثمرة مثل السكريات والاحماض العضوية وغيرها . وللتأكد من صحة القراءة أستعمل جهاز **Abbe Refractometer** وقارن بين قراءة الجهازين . سجل درجة حرارة المختبر أثناء قراءة الجهاز ثم صحح القراءة الى درجة **20**ْم بأستعمال جدول خاص لابد من وجوده في المختبر .

(4) تقدير المواد الصلبة غير الذائبة : (IS) Insoluble Solids

بعد تحضير عدد من عينات الثمار المختلفة في درجة نضجها يتم وزن كل عينة من الثمار ثم يستخرج عصيرها ويتم وزنه بعدها يتم ترشيح العصير كما سبق ذكره ويحدد وزنه أيضآ . يؤخذ حجم معين العصير لغرض فصل ما تبقى به من المواد الصلبة غير الذائبة بأستعمال جهاز الطرد المركزي **Centerfuge** بعدها يتم وزن العصير مرة أخرى . من هذا العصير يؤخذ حجم معين ويتم تجفيفه في فرن على درجة حرارة **75**ْم ثم طبق المعادلة التالية :

$$IS\,\% = \frac{100\,(TS\,\% - SS\,\%)}{100 - SS\%}$$

حيث أن :

T S = Total Solids تمثل مجموع المواد الصلبة الذائبة وغير الذائبة .

SS = Soluble Solids تمثل المواد الصلبة الذائبة في العصير .

I S = Insoluble Solids تمثل المواد الصلبة غير الذائبة .

T S % = وزن العصير بعد التجفيف في الفرن ÷ وزن العصير قبل التجفيف × **100**

أن فائدة المواد الصلبة غير الذائبة هو لتحسين مظهر لب الثمار كما يعطي شعورآ لطيفآ أثناء الأكل ، فالثمار التي عبرت مرحلة النضج **Over ripe** فأنها ستكون عديمة القوام وشبه مهروسه وقابليتها الأكليه تقريبآ معدومة ، بينما الثمار التي في مرحلة النضج المناسبة فتكون ذات قوام ممتاز عند الأكل . ويعود قوام لب الثمار الى مجموع المواد الصلبة غيرالذائبة وأهمها المواد البكتينيه **Pecteins** والألياف السليلوزيه **Cellulosic fibers** وأنصاف السليلوز **Hemicellulose** فيلاحظ أزدياد نسبة المواد الصلبة الذائبة بتقدم مرحلة النضج وذلك نتيجة لتحول المواد البكتينيه الغير ذائبة الى مواد بكتينيه ذائبة وتقدر النسبة المئوية للمواد الصلبة الذائبة في عصير البرتقال المركز بحدود تتراوح **10 - 12** % .

(5) تقدير بعض الصبغات النباتية (الكلوروفيلات والكاروتينات) Chlorophylls and Carotenoids

سنذكر هنا طريقتين مختلفتين في الأسلوب المستخدم في القياس :

أولاً – الطريقة التي يستعمل فيها معامل الأمتصاص النوعي للصبغة The specific absorption coefficients مثلآ تقدير كلوروفيل أ ، ب عند الطول الموجي **663 , 645** نانومتر في الأستون **80**% ومن ثم تطبيق المعادلة الخاصة بكل نوع لتقدير تركيزه أوتقدير الكلوروفيل الكلي . كذلك الحال بالنسبة لتقديرصبغة الكاروتين عند الطول الموجي **480** نانومتر ، وفي هذه الطريقة لابد من تحضير العينة حسب الخطوات التالية :

+ ضع **5** غم من العينة الطازجة التي يراد تقدير صبغات الكلوروفيل والكاروتين فيها في خلاط كهربائي **Electric blender** وأضف أليها كمية قليلة من ألأستون تركيز **80%** مع قليل من بيكاربونات الصوديوم وذلك لمنع تكسر صبغة الكلوروفيل .

+ شغل الخلاط لمدة دقيقة واحدة ثم أنقل العينة نقلاً كمياً ورشحها في دورق حجمي سعة **250** مل وأكمل الحجم الى حد العلامة بألأستون **80%** .

+ رج المحلول جيداً لكي يتجانس ثم خذ منه عينة لتقرء بجهاز ال **Spectrophtometer** وكما يأتي :

(أ) تقدير الكلوروفيلات

أقرء الأمتصاص الضوئي على الطول الموجي **663** نانوميتر ثم طبق المعادلة التالية :

كلوروفيل أ **Chlorophyll a**

$$\text{Chlorophyll a (mg/L)} = 12.7 \times A_{663} - 2.69 \times A_{645}$$

أقرء الأمتصاص الضوئي على الطول الموجي **645** نانوميتر وطبق المعادلة التالية :

كلوروفيل ب **Chlorophyll b**

$$\text{Chlorophyll b (mg/L)} = 22.9 \times A_{645} - 4.68 \times A_{663}$$

الكلوروفيل الكلي يمكن تقديره بعد قياس أمتصاص الضوئ على الأطوال الموجية **663** و **645** نانوميتر وطبق المعادلة :

$$\text{Total chlorophyll (mg/L)} = 20.2 \times A_{645} + 8.02 \times A_{663}$$

كما يمكن حساب المحتوى من الكلوروفيل على أساس الوزن الطري بأستخدام المعادلات التالية :

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

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

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

ثانيآ – الطريقة التي يتم فيها تقدير المحتوى الكلوروفيلي بأستخدام جهاز Chlorophyll meter مباشرة على أوراق النبات والذي يعطي القياس بوحدات Spad . وتنجز العملية كالأتي :

+ يتم أعتماد الأوراق البالغة المكتملة النمو لقياس محتوى الكلوروفيل مثلاً الورقة الخامسة فوق سطح التربة بالنسبة لنباتات الخُضراوات أو الأوراق الكاملة النمو والتي يكون موقها في وسط الأغضان النامية على الأفرع الريسية لأشجار الفاكهه .

+ يتم أخذ على الأقل **5** قراءات للورقة الواحدة وأخذ المعدل لها ويتم القياس لعينة من أوراق النبات بعدد يتناسب مع نوع وعمر النبات للخروج بمعدل يعطي فكرة عن المحتوى من الكلوروفيل لذلك النبات .

(ب) تقدير الكاروتينات : يمكن أستعمال نفس المحلول الذي تم تحضيره لقياس تركيز الكلوروفيلات لكن قياس الكاروتين يتم بقراءة الأمتصاص الضوئي على الطول الموجي **480** نانومتر ثم طبق المعادلة التالية :

$$X = \frac{E \quad Y}{100 \times e} \times 1000mg$$

X تمثل عدد الملغرامات من الكاروتين في مل من المحلول .

E = قراءة الجهاز على الطول الموجي **480** نانوميتر .

e = لمجموع الكاروتينات وتساوي = **2300** **Specific extinction coefficient**

Y = حجم المحلول النهائي بعد التخفيف بالأستون .

(6) تقدير فيتامين سي C في الثمار : Ascorbic acid

تعد الفواكه والخضر من أهم المصادر الغنيه بفيتامين **C** الذي يمكن تقديره بعدة طرق منها :

*** طريقة التسحيح مع صبغة ال 2,6–Dichlorophenol – Indophenol**

تعتمد هذه الطريقة على أختزال الصبغة بواسطة حامض الأسكوربك **Ascorbic acid** أذ أن لون الصبغة يكون أزرق في المحلول القاعدي وأحمر في المحلول الحامضي ، وعند أختزال هذه الصبغة بواسطة حامض ألأسكوربك تتحول الى عديمة اللون . أن التفاعل يعد تفاعلآ كميآ (بمعنى أنه يعتمد على كمية حامض الأسكوربك) كما يعتبر تفاعلآ خاصآ بحامض الأسكوربك بمعنى أن الحوامض الأخرى ليس لها القابلية على أختزال الصبغة . وأن أحسن مدى من ال **pH** لحدوث التفاعل هو **1 – 3.5** .

المحاليل المطلوب تحضيرها

(1) المحلول الحامضي : يتكون من **3** % حامض الميتافوسفورك (HPO_3) وحامض الخليك (**HCOOH**) وحامض الكبريتيك (H_2SO_4) ويتم التحضير كما يلي :

أذب **15** غم من حامض الفوسفوريك في **40** سم^3 من حامض الخليك ثم أضف أليه **200** سم^3 من حامض الكبريتيك **0.3** عياري في دورق حجمي سعة **500** سم^3 وأكمل الحجم بالماء المقطر .أن حامض الميتافوسفوريك يتحول ببطء الى حامض الفسفوريك (H_3PO_4) لذلك يجب خزنه في الثلاجة مدة لاتزيدعن **10** أيام وعندما تطول المدة أكثر من ذلك يتم تحضير محلول جديد .

(2) محلول حامض ألأسكوربك القياسي : التركيز المطلوب هو **1** ملغم / سم^3 حيث يتم تحضيره بأذابة **50** ملغم من مسحوق حامض الأسكوربك في دورق حجمي سعة **50** سم^3 ثم يضاف اليه من المحلول الحامضي الذي تم تحضيره في الفقرة **(1)** الى حد العلامة ويحفظ في الثلاجة . أما مسحوق حامض الأسكوربك فيحفظ في مجففه بعيدآ عن ضؤ الشمس .

(3) محلول صبغة الأندوفينول القياسي : تتم عملية التحضير بأذابة **50** ملغم من صبغة **2,6–Dichloroindophenol** في **50** سم^3 من الماء المقطرالذي أضيف أليه **42** ملغم من بيكاربونات الصوديوم $NaHCO_3$ ثم رج الخليط بشدة الى أن تذوب الصبغة ثم خفف المحلول الى **200** سم^3 بالماء القطر مستعملآ دورقآ حجميآ لضبط الحجم وبعد ذلك رشح المحلول بأستعمال ورق الترشيح ثم أخزن المحلول في قنينة زجاجية ذات لون داكن بعيدآ عن ضوء الشمس وفي الثلاجة . أن عدم

خزن محلول الصبغة أو المحلول القيلسي بصورة جيدة وصحيحة يجعل من الصعوبة تمييز نقطة النهاية **End point** أثناء التسحيح ، لذلك يجب تحضير محلول قياسي جديد كل أسبوع (**7** أيام)وعدم

أستعمال الصبغة أذا كانت فيها عيوب . وللتأكد من جودة محلول صبغة الأندوفينول القياسي يمكن أجراء الأختبار البسط التالي : أضف **5** سم^3 من المحلول الحامضي الذي يحتوي على حامض الأسكوربك الى **15** سم^3 من محلول الصبغة القياسي فأذا أصبح محلول الصبغة عديم اللون فأن المحلول القياسي للصبغة يعد جيداً .

طريقة العمل :

قبل بدء العمل يجب تثبيت عيارية محلول الصبغة القياسي يومياً وذلك يكون مع محلول حامض الأسكوربيك القياسي وكما يلي :

(1) خفف حجم من محلول حامض الأسكوربك القياسي من **1** ملغم / سم^3 الى **0.1** ملغم / سم^3 وذلك بأخذ **10** سم^3 من محلول حامض الأسكوربك القياسي توضع في دورق حجمي سعة **100** سم ^{3} ويكمل الحجم الى حد العلامة بالماء المقطر .

(2) خذ **5** سم^3 من محلول حامض الأسكوربك المخفف وضعه في دورق أرلنماير ثم أضف أليه **5** سم^3 من المحلول الحامضي .

(3) سحح الخليط مع محلول الصبغة القياسي حتى يتغير اللون الى اللون الوردي الذي يبقى لمدة لا تزيد عن **15** ثانية .

(4) أوجد معامل الصبغة (ملغم من حامض الأسكوربك / سم^3 من محلول الصبغة) وفق المعادلة التالية :

معامل الصبغة (**F**) = **0.5** ÷ حجم الصبغة المستعمله في التسحيح (سم^3) .

تحضير العصير

1- يتم تحضير عصير ثمار أصناف مختلفة بالطريقة التي تم ذكرها وأزالة اللون أن وجد .

2- خذ حجم من العصير وليكن **20** سم^3 يوضع في دورق حجمي سعة **100** سم^3 ويكمل الحجم الى حد العلامة بالمحلول الحامضي ، ثم يتم الترشيح أو أزالة الشوائب بأستعمال الطرد المركزي .

3- خذ حجم معين من المحلول المزيج (العصيرمع المحلول الحامضي) بعد الترشيح وليكن **10** سم^3 وضعه في دورق أرلنماير سعة **50** سم^3 ثم سححه مع محلول الصبغة القياسي حتى يظهر اللون الوردي الذي يبقى لمدة لاتزيد عن **15** ثانية . سجل حجم محلول الصبغة المستعمل (سم^3) أعد عملية التسحيح مرة ثانيةعلى أن يضاف معظم حجم الصبغة اللازم والذي

تم أستعماله في المحاولة الأولى مرة واحدة مع الرج السريع ،بعدها أوجد حجم الصبغة المستعملة في المحاولة الثانية ز أستعمل الحجم الذي حصلت عليه في المحاولة الثانية في الحسابات .

4- أوجد حجم محلول الصبغة المستعملة في التسحيح لعينة ال **Blank** التي يستعمل فيها كل ما أستعمل في العينات ألأخرى عدى محلول فيتامين **C** القياسي .

الحسابات أوجد مقدار فيتامين **C** في العصير أو الثمرة وكما يلي :

$$\text{vit. C / 100 ml} = \frac{T \times F \times Vt \times 100}{V2 \times V1} = \frac{T \times F \times 100 \times 100}{10 \times 20}$$

حيث أن :

T تمثل حجم محلول الصبغة القياسي المستعمل في التسحيح (الحجم المستعمل في التسحيح بدون حامض الأسكوربك (**Blank**)

F = معامل الصبغة (ملغم فيتامين **C** اللازم لأختزال سم^3 من محلول الصبغة)

Vt = الحجم الذي خففت أليه العينة المستعملة من العصير (**100** سم^3)

V1= حجم العينة التي أخذت من العصير (**20** سم^3)

V2= حجم العينة المأخوذة من الخليط بعد الترشيح (**10** سم^3)

ملاحظة : أن هذه الطريقة يمكن أستعمالها لتقدير كمية حامض الأسكوربك المختزل ولايمكن أستعمالها أذا وجدت مواد عائقة (**Interference**) مثل الحديد (**Ferrous** (**Fe**) أو القصدير (**Stannous** (**Sn**) أو النحاس (**Cuprous** (**Cu**) أو ثاني أوكسيد الكبريت SO_2 ، فعند وجود هذه الشوائب يجب التخلص منها قبل ألتنفيذ .

(7) تقدير السكريات :

حسب طريقة Lane and Eynon

تعتمد هذه الطريقة على أختزال النحاس الموجود في محلول فهلنك **Fehling 's** الى اللون الأحمر أذ يمكن تقدير كمية السكريات في عصير الفواكه والخضر من خلال معرفة حجم المحلول السكري اللازم لأختزال حجم معين من محلول فهلنك .

المواد المستعملة

1- محلول فهلنك الأول (A) Fehling's solution : يتم تحضيره بأذابة **69.28** غم من كبريتات النحاس ($CuSO_4$) بحجم معين من الماء المقطر بعدها ينقل المحلول الى دورق حجمي سعة **1000** سم^3 ويكمل الى حد العلامة بالماء المقطر . وعند الضرورة يمكن ترشيحه .

2- محلول فهلنك الثاني (B) Fehling's solution : يحضر بأذابة **346** غم من ملح روشل (**Potassium Sodium Tartrate**) $KNa\ C_4H_4O_6\ 4H_2O$ و **100** غم من هيدروكسيد الصوديوم في حجم معين من الماء المقطر ثم ينقل الى دورق حجمي سعته **1000** سم^3 ويكمل الحجم الى حد العلامة .

3- صبغة المثيل الزرقاء كدليل كاشف Methylene blue : تحضر بأذابة **1** غم من صبغة المثيل الزرقاء في **100** سم^3 من الماء المقطر .

4- محلول خلات الرصاص المتعادلة بتركيز 45 % : يحضر بأذابة **225** غم من خلات الرصاص المتعادلة بحجم معين من الماء المقطر ثم يكمل الحجم الى **500** سم^3 .

5- محلول أوكزالات البوتاسيوم بتركيز 22 % : يحضر بأذابة **110** غم من أوكزالات البوتاسيوم ($K_2C_2O_4\ H_2O$) في حجم معين من الماء المقطر ثم أكمل الحجم الى **500** سم^3 .

أن وجود زيادة من خلات الرصاص في المحلول السكري ينتج عنه خطأ في التسحيح لذلك يجب معرفة كمية محلول أوكزالات البوتاسيوم اللازمة لترسيب الرصاص من محلول خلات الرصاص ، ولمعرفة هذه الكمية أجري الأختبار التالي :

+ جهز **6** بيكرات سعة كل منها **50** سم^3 وضع في كل بيكر **25** سم^3 ماء مقطر ثم أضف **2** سم^3 من خلات الرصاص الى كل بيكر .

+ أضف محلول أوكزالات البوتاسيوم حسب الحجوم التالية الى كل بيكر بالتسلسل وكما يلي : **2.0 , 2.1 1.6 1.7 , 1.8 , 1.9** , سم^3 بعد ذلك رشح محتويات كل بيكر خلال ورقة ترشيح رقم**H 41** ثم أجمع الراشح في دورق أرلنماير سعة **50** سم ^{3} . أضف الى الراشح في كل دورق قطرات قليلة من محلول أوكزالات البوتاسيوم وذلك لتحديد المستوى الأحسن من أوكزالات البوتاسيوم وهو المستوى الذي أعطى أقل كمية ساعدت على ترسيب جميع الرصاص الموجود في **2** سم^3 من محلول خلات الرصاص التي وضعت في البيكرات الستة ، ويمكن معرفة ذلك من عدم ظهور راسب أبيض عند أضافة حامض الهيدروكلوريك أو عدم ظهور راسب أصفر عند أضافة محلول كرومات البوتاسيوم . أن الحجم المناسب يعتبر الحجم المكافىء من أوكزالات البوتاسيوم ويجب أن يكتب ذلك على القنينة الحاوية على أوكزالات البوتاسيوم ويمكن أستعمال هذا الحجم في كل مرة يراد فيها قياس السكريات .

6- المحلول السكري القياسي : أوزن **9.5** غم من السكروز النقي وضعها في دورق حجمي سعة **1** لتر ثم أضف أليها **100** سم^3 ماء مقطر و**5** سم^3 من حامض الهيدروكلوريك المركز، وأتركه لمدة **3** أيام في درجة حرارة الغرفة (**20 – 25**ْ م)

لكي يتحلل السكروز الى فركتوز وكلوكوز , بعد ذلك أكمل الحجم الى حد العلامة بالماء المقطر (هذا المحلول يمكن الأحتفاظ به في الثلاجة لمدة شهر)

خذ 25 سم^3 من هذا المحلول القياسي وضعها في دورق حجمي سعة **100** سم^3 وأضف أليها **50** سم^3 ماء مقطر ثم أضف قطرات قليلة من صبغة الفينولفثالين **Phenolphthalein** بعد ذلك أضف محلول هيدروكسيد الصوديوم تركيز **20%** الى أن يتحول اللون الى الأرجواني وذلك دليل على أن المحلول أصبح متعادلآ . ولكي تجعل المحلول حامضي أضف حامض الهيدروكلوريك **1** عياري (**HCl 1N**) قطرة فقطرة حتى يزول اللون الأرجواني ويصبح المحلول عديم اللون ، ثم أضف ماء مقطر الى حد العلامة وبذلك يكون في كل **1** سم^3 من المحلول القياسي **2.5** ملغم سكر .

7- تصحيح عيارية محلول فهلنك :هو أيجاد حجم المحلول السكري اللازم لأختزال **10** سم^3 من محلول فهلنك بصورة كاملة ويمكن أيجاد ذلك كما يلي:

أمزج **50** سم^3 من محلول فهلنك ألاول (**A**) و **50** سم^3 من محلول فهلنك الثاني (**B**)بصورة جيدة في دورق حجمي سعة **100**سم^3 ثم خذ **10** سم^3 بصورة مضبوطة من مزيج محلول فهلنك بواسطة ماصة وضعها في دورق أرلنماير حجم **250** سم^3 وأضف اليه **50** سم^3 ماء مقطر . ثم حضر سحاحة حجم **50** سم^3 وأملئها بالمحلول السكري القياسي المعاير وأضف ما يقارب **18** سم^3 من المحلول السكري الى محلول فهلنك في دورق أرلنماير وأستمر بالتسحيح قطرة فقطرة مع الرج الى حين أختزال جميع محلول فهلنك بواسطة المحلول السكري ، بعدها سخن المزيج على مسخن هادئ حتى الغليان وأتركه يغلي لمدة دقيقتين بدون أزالته عن النار وبدون تحريك ,وأضف **3** قطرات من صبغة المثيل الزرقاء وأستمر بالتسحيح ببطئ أثناء غليان المحلول وأكمل التسحيح خلال **3** دقائق ، أن نقطة النهاية هي زوال لون الصبغة . سجل حجم

المحلول السكري اللازم لأختزال (**10** سم^3) من محلول فهلنك بصورة كاملة .(أن حجم المحلول السكري اللازم لذلك يجب أن يكون بحدود **20.37** + **0.05** سم^3 وألا فيوجد خطأ في تحضير المحاليل القياسية . ويمكن أيجاد معامل أو مكافئ محلول فهلنك كما يلي :

$$\textbf{Factor for Fehling's solution (grams of sugars)} = \frac{T \times 2.5}{1000}$$

حيث أن :

T تمثل حجم المحلول السكري المستعمل في التسحيح .

8- تحضير العينة التي يراد قياس لسكريات فيها وتتم العملية كما يلي:

+ حضر عصير ثمار حسب الطريقة التي ذكرناها سابقآ ثم رشحه بأستعمال ورقة ترشيح رقم **4** .

+ أوزن **25** غم من العصير وأنقله الى دورق حجمي سعة **250** سم^3 وأضف أليه **100** سم^3 ماء مقطر وعادل الحموضة بأضافة هيدروكسيد الصوديوم **1** عياري قطرة فقطرة حتى تصل نقطة التعادل .

+ أضف **2** سم^3 من خلات الرصاص ورج المحلول وأتركه لمدة **10** دقائق .

+ أضف الكمية المناسبة من أوكزالات البوتاسيوم اللازمة لأزالة الزيدة من الرصاص كما ذكرنا سابقآ وأكمل الحجم الى حد العلامة بالماء المقطر .

تحضير العينة التي يراد قياس السكريات فيها :

حضر عصير ثمار بأحد الطرق السابقة ثم رشحه من خلال ورق ترشيح رقم **4** . أوزن **25** غم من العصير وأنقله الى دورق حجمي سعة **250** سم^3. أضف حوالي **100** سم^3 من الماء وعادل حموضة المحلول بأضافة هيدروكسيد الصوديوم عياري **1** (**1N**) قطرة فقطرة ثم أضف أليه **1**سم^3 من خلات الرصاص ورج المحلول وأتركه لمدة **10** دقائق بعدها أضف الكمية المناسبة من أوكزلات البوتاسيوم لأزالة الزيادة من الرصاص ، ثم أكمل الحجم الى حد العلامة بالماء المقطر .

تقدير السكريات المختزلة Reducing sugars

طريقة التسحيح : يشترط في هذه الطريقة أن يكون المحلول السكري متعادلآ ويجب أن يكون تركيز المحلول السكري بين (**0.1 – 0.3** غم) من السكر لكل **100** سم^3 من الماء ،أذ أن هذا التركيز يحتاج ما بين **15 – 50** سم^3 من المحلول السكري لأختزال **10** سم^3 من محلول فهلنك . كما يجب أن تستعمل طريقة التسحيح التجريبي لحين التأكد من وصول التخفيف المناسب من السكر ثم العوده لأستعمال طريقة التسحيح . وتجرى العملية كالأتي :

(أ) التسحيح التجريبي :

+ خذ **10** سم^3 من مزيج محلول فهلنك (**5** سم^3 من كل من المحلولين **A, B**) وضعها في دورق أرلنماير سعة **250** سم^3 ثم أضف أليه **50** سم^3 ماء مقطر .

+ أملئ السحاحة بالمحلول السكري الذي يراد تقدير السكر فيه وأبدء بالتسحيح للمحلول السكري مع محلول فهلنك لحين أختزال محلول فهلنك بصورة كاملة .

+ سخن المزيج الى الغليان على سخان هادئ وأتركه يغلي لمدة **15** ثانية ، فأذا بقى المحلول أزرق اللون دل ذلك على أن محلول فهلنك لم يتم أختزاله بصورة كامله لذلك يجب أضافة محلول سكري أضافي من

السحاحة (**2 – 3** سم^3) ثم أغلي المحلول لثوان قليلة بعد كل أضافة الى أن يبقى لون أزرق فاتح جداً في المحلول .

+ أضف **3** قطرات من صبغة المثيل الزرقاء ثم أكمل التسحيح بأضافة المحلول السكري قطرة فقطرة الى أن يزول لون الصبغة بصورة كاملة .

+ سجل حجم المحلول السكري المستعمل في التسحيح . علماً أن دقة هذه الطريقة تعتمدعلى سرعة أنتهاء عملية التسحيح لذلك وجب أجراء عملية التسحيح التجريبي أولاً ، كما يجب أن يكون مجموع مدة الغليان ثلاث دقائق للحصول على نتيجة مضبوطة .

(ب) التسحيح الثابت :

+ خذ **10** سم^3 من مزيج محلول فهلنك في كل من دورقين أرلنماير سعة **250** سم^3 .

+ أملئ سحاحة حجم **50** سم^3 بالمحلول السكري الذي يراد قياس السكر فيه وأضف بسرعة معظم المحلول السكري اللازم لأختزال محلول فهلنك مع أبقاء ما بين **0.5 – 1** سم^3 من الحجم اللازم وأضافته قطرة فقطرة .

+ أمزج محتويات الدورق جيداً وأغلي المحلول على سخان هادئ وأستمر بالغليان لمدة دقيقتين .

+ أضف ثلاث قطرات من صبغة المثيل الزرقاء مع مراعاة عدم ملامسة محلول الصبغة لحافة الدورق .

+ أكمل التسحيح أثناء الغليان خلال دقيقة واحدة بأضافة المحلول السكري اللازم قطرة فقطرة بمعدل **2 – 3** قطرات كل **5 – 10** ثوان الى أن يزول لون صبغة المثيل بصورة تامة .

أن لون المحلول يكون أحمر فاتح أثناء الغليان وعند وصول نقطة النهاية يظهر راسب والذي هو عبارة عن لون راسب أوكسيد النحاس قبل أضافة صبغة المثيل الزرقاء ، سجل حجم المحلول السكري المستعمل .

ملاحظة : أن الكاشف المستعمل حساس جداً لدرجة أنه يمكن تحديد نقطة النهاية بأضافة قطرة واحدة من المحلول السكري . ويمكن ألاستدلال على زوال جميع لون صبغة المثيل الزرقاء من تحول لون جميع المحلول الى لون أحمر فاتح أو برتقالي ، وفي حالة تعذر رؤية اللون بوضوح يمكن وضع الدورق فوق ورقة بيضاء على المنضدة لمدة ثانية واحدة . أذا لم يزول جميع لون الصبغة فأن لون المحلول سيكون أحمر شاحب كما يجب عدم التوقف عن الغليان أو أزالة المحلول عن السخان لمدة أكثر من ثوان قليلة خلال العمل لان الصبغة تتأكسد ويعود لونها مرة أخرى لمجرد ملامسة الهواء .

تقدير مجموع السكريات Total sugars

+ خذ **50** سم^3 من المحلول الذي تم تحضيره سابقاً لتقدير السكريات المختزلة فيه وأنقله الى دورق أرلنماير سعة **250** سم^3 .

+ أضف أليه **5** غم من مسحوق حامض الستريك ثم أضف أليه **50** مل من الماء القطر وضع المحلول على سخان هادئ حتى الغليان وأتركه يغلي لمدة **10** دقائقوذلك لتحليل السكروز ثم برد المحلول ز

+ أنقل المحلول الى دورق حجمي سعة **250** سم^3 وأضف أليه عدة قطرات من صبغة الفينولفثالين ثم عادل المحلول بأضافة هيدروكسيد الصوديوم **1** عياري (**NaOH 1 N**) ثم أكمل الحجم الى حد العلامة بالماء المقطر .

@ لتحليل السكروز في درجة حرارة الغرفة يمكن أخذ **50** سم^3 من المحلول الذي تم تحضيره سابقآ لقياس السكريات المختزلة وضعها في دورق أرلنماير سعة **250** سم^3 ثم أضف أليه **10** سم^3 من حامض الهيدروكلوريك المخفف الى النصف (جزء حامض + جزء ماء مقطر) وأتركه في درجة حرارة الغرفة (**20**ْم) لمدة **24** ساعة ،بعدها عدل الحموضة بأضافة هيدروكسيد الصوديوم المركز وأكمل الحجم الى حد العلامة بالماء المقطر . بعد ذلك خذ مقدار معين من المحلول وقدر مجموع السكريات كما سبق ذكره في طريقة تقدير السكريات المختزلة .

الحسابات :

$$(1)\ \%\ \text{Reducing sugars} = \frac{mg \times D \times 100}{T \times Wt \text{ or } V \times 100}$$

$$D = \frac{T \times 2.5}{1000}$$

حيث أن :

mg تمثل ملغرامات السكريات المختزلة في المحلول المستعمل في التسحيح (يمكن معرفة ذلك من الجدول المرفق)

D = معامل التخفيف . ، **T** تمثل حجم المحلول السكري المستعمل في التسحيح .

Wt = وزن العينة المستعملة . ، **V** = حجم العينة المستعملة .

$$(2)\ \%\ \text{Total sugars} = \frac{mg \times D \times 100}{T \times Wt \text{ or } V \times 100}$$ (بعد التحليل)

الحروف المستعملة في المعادلة تعني ذات المعنى في المعادلة الاولى عدى أستعمال الحجوم والاوزان التي أستعملت في حالة تقدير السكريات الكلية .

$$(3)\ \%\ \text{Sucrose} = (\ \%\ \text{Total sugars} - \%\ \text{Reducing sugars}\ ) \times 0.95$$

$$(4)\ \%\ \text{Total sugars} = \%\ \text{Reducing sugars} + \%\ \text{Sucrose}$$

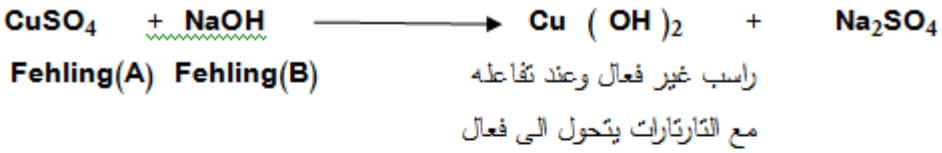
(قبل التحليل)

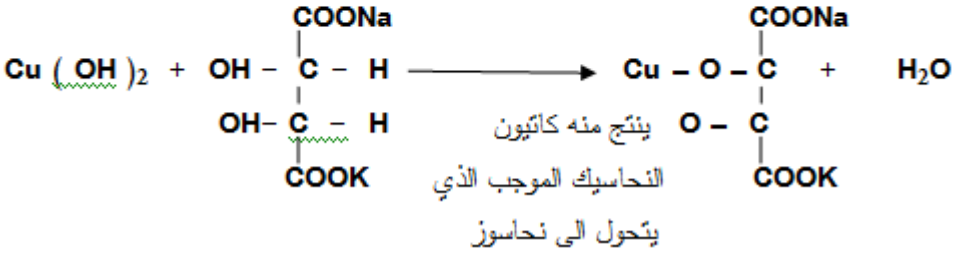
ملاحظة : أذا كان المراد معرفة النسبة التقديرية للسكريات فيمكن في هذه الحالة أستعمال معامل محلول فهلنك الذي تم أيجاده سابقآ ومن ثم أستعمال المعادلة التالية :

$$(5)\ \%\ \text{Reducing sugars} = \frac{F \times D \times 100}{T \times Wt \text{ or } V}$$

حيث أن : **F** تمثل معامل محلول فهلنك . أما بقية الأحرف فتدل على ذات المعنى للمعادلة الأولى .

$$CuSO_4 + NaOH \longrightarrow Cu(OH)_2 + Na_2SO_4$$


CuSO4 + NaOH
Fehling(A) Fehling(B)
Cu (OH)2 + Na2SO4
راسب غير فعال وعند تفاعله
مع التارتارات يتحول الى فعال


Cu (OH)2 + OH – C – H
COONa
OH– C – H
COOK
Cu – O – C + H2O
COONa
O – C
COOK
ينتج منه كاتيون
النحاسيك الموجب الذي
يتحول الى نحاسوز

جدول يبين مقدار السكريات المختزلة (**mg**) الموجودة في المحلول السكري اللازم لأختزال **10** سم^3 من محلول فهلنك بطريقة **Lane and Eynon** .

حجم المحلول السكري المستعمل في التسحيح (**T**)	مقدار السكريات الختزلة فيه (**mg**)		حجم المحلول السكري المستعمل في التسحيح (**T**)	مقدار السكريات المختزلة فيه (**mg**)
15	**50.5**		**33**	**51.7**
16	**50.6**		**34**	**51.7**
17	**50.7**		**35**	**51.8**
18	**50.8**		**36**	**51.8**
19	**50.8**		**37**	**51.9**
20	**50.9**		**38**	**51.9**
21	**51.0**		**39**	**52.0**
22	**51.0**		**40**	**52.0**
23	**51.1**		**41**	**52.1**
24	**51.2**		**42**	**52.1**
25	**51.2**		**43**	**52.2**
26	**51.3**		**44**	**52.2**
27	**51.4**		**45**	**52.3**
28	**51.4**		**46**	**52.3**
29	**51.5**		**47**	**52.4**
30	**51.5**		**48**	**52.4**
31	**51.6**		**49**	**52.5**
32	**51.6**		**50**	**52.5**

(8) قياس سرعة التنفس

يقصد بسرعة التنفس (**Respiration rate**) كمية غاز ثاني أوكسيد الكاربون الناتج أوغاز الأوكسجين المستهلك من وزن معين من الأجزاءالنباتية في وحدة زمنية معينة وعلى درجة حرارة معينة ،لذلك يلاحظ أعتماد طرق قياس سرعة التنفس على طبيعة التفاعلات المرتبطة بعملية التنفس ذاتها . فبعض هذه الطرق يعتمد على غاز ثاني أوكسيد الكاربون CO_2 المنبعث والأخرى تعتمد على غاز ألأوكسجين O_2 الممتص وهاتين تعد أحسن الطرق وأسهلها وأكثرها دقة في الأجراء كما أنها تحتاج الى أجهزة بسيطة لقياس كمية الغازالداخل أو الناتج من عملية التنفس . وهنك طرق أخرى بعض منها يعتمد على قياس الفقد في الوزن الجاف وتعد هذه من الطرق الصعبة جداً نظراً لأن المادة الجافة التي تفقد نتيجة عملية التنفس ليست كبيرة بينما يعتمد البعض الأخر على مقدار الحرارة الناتجة من عملية التنفس وهذه أيضاً من الطرق الصعبة وتحتاج الى أجهزة خاصة معقدة لقياس كمية الطاقة ، لكن الطرق الأكثر شيوعاً هي تلك التي تعتمد على CO_2 الناتج أو O_2 المستهلك ويلاحظ بشكل عام أن الطرق المتبعة في قياس سرعة التنفس تنجز بعيداً عن الضوء وذلك لأيقاف البناء الضوئي في الثمار الخضراء أو الخضر الورقية المستعملة كعينة لقياس سرعة التنفس ومنع تداخل الغازات المستعملة في عملية البناء الضوئي مع الغازات التنفسية إضافة الى وضع أجهزة قياس التنفس في غرفة تكون درجة الحرارة ثابته فيها **20– 21**ْم (**68 –70**ْ ف).

طرق قياس غاز ثاني أوكسيد الكاربون الناتج : تعد طرق تقدير كمية CO_2 الناتج بسيطة وتتضمن :

1 – الطرق المباشرة : وهي الطرق التي تعتمد في عملها على أمتصاص **CO2** الناتج من تنفس العينة بمادة تتفاعل معه ومن ثم تقدير المتبقي بالتسحيح . وتشمل طريقتين هما :

+ طريقة التقدير في حيز مغلق **from closed system**

+ طريقة أستخدام جهاز تيار الهواء المستمر **Air flow system** (طريقة تيار الهواء المستمر **Gas stream method**) تمتاز هذه الطريقة بالدقة والكفائة كما تسمح بدراسة العينة لفترة طويلة في ظروف موحدة . ولأنجاز العمل لابد من أعداد جهاز مخصص لهذا الغرض يتكون من وحدتين أحدهما لا يوضع فيها عينة نباتية. فيمرر الهواء الداخل في الجهاز أولآ خلال أنبوبة ملتوية على شكل حرف **U** تحتوي على محلول هيدروكسيد الصوديوم **40%** (**NaOH**) لتنقية الهواء وتخليصه من CO_2 الموجود في الهواء الجوي ثم يمرر الهواء الى وعاء يحتوي ماء نقي مقطر حديث التقطير لغسل الهواء من بقايا هيدروكسيد الصوديوم وترطيبه بعدها يدخل الهواء الخالي من CO_2 الى وعاء محكم ذو غطاء تنفذ منه أنبوبتان الأولى لدخول الهواء وتكون طويلة تصل الى قرب قعر الوعاء وأنبوبة ثانية لأخراج الهواء بعد مروره على العينة النباتية الموضوعة في الوعاء ويشترط أن يكون تيار الهواء ثابتآ ويستحسن أطفاء الضوء خلال أجراء قياس التنفس لمنع حدوث عملية البناء الضوئي مما يتسبب في أستنفاذ كمية من ثاني أوكسيد الكاربون الناتج من تنفس العينة النباتية . بعدها تيار الهواء الخارج من وعاء تنفس الثمار ويمرر على محلول هيدروكسيد الباريوم خلال أنبوب يعرف بأنبوب بتنكوفر **Pettencuffer** (عبارة عن أنبوب أسطواني قطره **2–3** سم وطوله تقريباً **50** سم في أحدى نهايتيه غطاء دائم وفي النهاية الأخرى غطاء بسيط ينتهي بأنتفاخ) فبعد غسله بالماء المقطر يوضع فيه حجم معلوم من هيدروكسيد الباريوم ذات عيارية معلومة (**0.05 –0.1** عياري) الذي يؤدي الى ترسيب CO_2 على صورة كاربونات الباريوم . فيربط الأنبوب بالجهاز مع مراعات أن تكون

النهاية ذات الفقاعة مرتفعة قليلآ عن الطرف الأخر بحدود **1** سم بحيث يكون مرور تيار الهواء داخل المحلول بأتجاه معاكس للآنحدار وأن يتساوى معدل مرور الهواء في كلا الوحدتين التي تحوي الثمار والأخرى التي بدون العينة مع التأكد من عدم وجود تسرب من الهواء الجوي عند تشغيل الجهاز الذي قد يستمرلمدة زمنية **3** أو **6** أو **12** ساعة بعدها يقفل الجهاز وتنقل المحاليل الموجودة في أنابيب بتنكوفر نقلآ كميآ الى دوارق مخروطية ويتم معادلة كل منها بحامض معروف العيارية مثل حامض الهيدروكلوريك **HCl** وعند الحصول على النتائج تطرح القيمة لمعاملة المقارنة من القيمة التي تم الحصول عليها مع العينة النباتية والتي تمثل حجم الحامض الذي يعادل المحلول القاعدي الذي ترسب على شكل حامض الكاربونيك الناتج من **CO_2** ويمكن حساب وزن **CO_2** من المعادلة التالية :

mg CO_2 = Dt × N × 22

حيث أن :

Dt تمثل الفرق بين قراءة معاملة المقارنة (بدون عينة نباتية) ومعاملة العينة قيد الدراسة (مل حامض هيدروكلوريك مستعمل في التسحيح) .

N = عيارية الحامض المستعمل في التسحيح .

22 = الوزن المكافئ ل **CO_2** = **44 ÷ 2 = 22** .

2 – الطرق غير المباشرة : وفي هذه الطرق يتم حساب كمية **CO_2** أعتمادآ على التغيير في تركيزه في الهواء الجوي وتستعمل أجهزة وأساليب خاصة لقياس تركيز **CO_2** في الهواء ومنها :

+ **الطريقة الحجمية** لقياس تركيز **CO_2** ويستعمل لهذا الغرض جهاز **Orsat**

+ **طريقة Clay pool–Keeter** وتعتمد هذه الطريقة على قياس التغيير في لون الصبغات نتيجة ذوبان **CO_2** بأستعمال جهاز **Colorimeter**

+ **طريقة التحليل بالأشعة تحت الحمراء Infra– Red ray analysis** تعد من الطرق حديثة العهد وتعتمد على أن أي مركب يمتص ألأشعة تحت الحمراءعند طول موجة محدد والذي يعتمد أساسآ على نوع الجزيء ونوع الروابط بين الذرات الداخلة في تركيب هذا الجزيء ويمكن قياس هذا الأمتصاص بواسطة أستخدام مكثف كهربائي موجود في الجهاز، وبهذه الطريقة يمكن قياس **CO_2** في مزيج من الغازات .

+ **الطريقة الكهربائية Electrical method** تشابه الطريقة الكمية في أستخدام مادة قلوية لأمتصاص **CO_2** غير أنها تختلف عنها في أسلوب الكشف عن كميته الذي يتم بأيجاد الفرق في مقدار التوصيل الكهربائي للمحلول القلوي قبل وبعد أمتصاص غاز ثاني أوكسيد الكاربون .

+ **طريقة الفصل الكراماتوكرافي للغازات Gas Chromatography** وهي طريقة تعتمد على فصل الغازات حسب وزنها الجزيئي بعد تسخين مخلوطها على درجات حرارة عالية ثم يقدر كل غاز لوحده وفي هذه الطريقة يجب توفر عينات قياسية **Standards** لكل غاز وتعد من الطرق الدقيقة لقياس غاز ثاني أوكسيد الكاربون الناتج من التنفس أو غاز الأوكسجين المستهلك في التنفس . أما عيوبها فأنها تقدر الغازات في حيز مغلق لذلك لا يمكن أستخدامها في المخازن وبصورة متتالية طيلة فترة الخزن .

أ – في حيز مغلق . ب – طريقة التيار الهوائي المستمر .

حسابات طريقة التيار المستمر

الوحدات **ml CO_2 / kg / hr or mg CO_2 / kg / hr**

فنحن لدينا المعلومات الأتية بالوحدات المبينة أزائها :

وزن الثمار بالكيلو غرام ، معدل سريان الهواء (سرعة التيار) **ml / hr or ml / min** ،

نسبة **CO_2 %** في تيار الهواء الخارج من الثمار بواسطة أحد الطرق الأربعة السابقة ،

نسبة **CO_2 %** في تيار الهواء الداخل الى الثمار .

وما نريد معرفته تركيز غاز ثاني أوكسد الكاربون أما بوحدات مل ثاني أوكسيد الكاربون لكل كيلوغرام من الثمار في الساعة أو بوحدات ملغرام ثاني أوكسيد الكاربون لكل كيلوغرام من الثمار في الساعة .

(أ) كيفية حساب التركيز بوحدات مل/ كغم/ ساعة ml CO_2 / kg /hr :

$$ml\ CO_2\ /kg\ /hr = \%\ CO_2 \times \frac{1}{wt\ (kg)} \times F \times \frac{1}{100}$$

حيث أن :

CO_2 % تمثل نسبة غاز ثاني أوكسيد الكاربون التي تم الحصول عليها من أحد الطرق السابقة .

$\frac{1}{100}$ لتغيير النسبة المئوية الى عدد عشري .

F تمثل سرعة تيار الهواء **ml /hr**

Wt = وزن الثمار المستعملة بالكيلوغرام

لتحويل **ml CO_2** الى **mg CO_2** أضرب بالمعامل **1.84** عند درجة الحرارة **20** درجة مئوية .

(ب) كيفية حساب تركيز CO_2 بطريقة التيار الهوائي المستمر بوحدات ملغم / كغم / ساعة mg CO_2 / kg /hr :

لغرض إيجاد تركيز ثاني أوكسيد الكاربون **CO_2** يجب معرفة ما يلي :

$$K = \frac{\frac{m1}{Air\ flow\ (min)} \times \frac{60\ min}{hr} \times \frac{1.84\ mg\ CO_2}{ml\ CO_2}}{Kg\ (fruit) \times 100}$$

حيث أن كل **1** سم^3 من **CO_2** يساوي **1.84** ملغم .

Mg CO_2 / Kg / hr = (K) x Net % CO_2

حيث أن **Net % CO_2** يمكن إستخراجها بعد قراءة **Transimttance scale** من الجهاز ومن جدول خاص .

سرعة الهواء = **300** م / ثا

$$\text{ml CO2./ kg /hr} = \%CO2 \times \frac{1}{100} \times \text{flow rate} \times \frac{1}{kg}$$

mg CO_2 / Kg / hr = النتيجة من المعادلة أعلاه X 1.84

نسبة ثاني أوكسيد الكاربون في الهواء الخارج من العينة وهو يصرف بواسطة جهاز **Rita gawo** أو إستعمال الصبغة .

حسابات طريقة الأمتصاص

نحن نعلم وزن العينة بالكيلوغرام ، زمن التجربة بالساعات ، حجم وعيارية الحامض المستعمل بالتسحيح .

نريد أن نعرف كم ملغرام من ثاني أوكسد الكاربون لكل كيلوغرام من الثمار بالساعة .

حجم الحامض × عيارية الحامض = عدد المليمكافئات المتفاعلة .

كل مكافئين من الحامض لكل مكافئ من ثاني أوكسيد الكاربون .

V Hcl X N Hcl = No. of millequivalents reacting .

2 equ. Of Hcl for each equ. Of CO_2 released .

إذن : (حجم الحامض × عيارية الحامض) × $\frac{1}{2}$ = مليمكافئات ثاني أوكسيد الكاربون .

الوزن المكافئ لثاني أوكسيد الكاربون = **44**

ملغم ثاني أوكسد الكاربون = الحجم × العيارية × $\frac{44}{2}$

ملغم ثاني أوكسيد الكاربون / كغم / ساعة = ملغم ثاني أوكسيد الكاربون × $\frac{1}{\text{الوزن(كغم)}}$ × $\frac{1}{\text{الزمن (ساعة)}}$

كيفية حساب تركيز غاز الأثلين بطريقة تيار الهواء المستمر وأستعمال جهاز Gas chromatography بوحدات مل أثلين / كغم / ساعة . ml C2H4 /kg / hr

لغرض حساب تركيز الأثلين نتبع الخطوات الأتية :

1- يتم حساب قيمة **K** كالأتي

$$\mathbf{K = \frac{0.06 \times flow\ rate\ (\frac{ml}{min})}{wt\ (kg)}}$$

2- يتم إيجاد الأثلين بوحدات مل /كغم / ساعة وعلى النحو الأتي :

ml C2H4 /kg / hr =ppm x K

وأن إشتقاق القانون تم على النحو التالي :-

ml C2H4 /kg /hr

$$= \frac{ml}{L} \text{ x flow rate } \frac{(ml)}{min} \text{ x } \frac{60\ min}{hr} \text{ x } \frac{L}{1000} \text{ x } \frac{1}{kg}$$

$$= ppm \text{ x flow rate x } \frac{60}{hr} \text{ x } \frac{L}{1000} \text{ x } \frac{1}{kg}$$

$$= \frac{60}{1000} \text{ x flow rate x ppm x } \frac{1}{kg} \text{ hr}$$

$$= 0.06 \text{ x flow rate x ppm x } \frac{1}{kg} \text{ hr}$$

(9) تقدير المواد الفينولية Phenols compounds

تُعد المواد الفينولية من مضادات الأكسدة ولها دور مهم في حماية المواد الغذائية من التأكد والتلف ويعود سبب الأنخفاض في محتوى الفينول بعد الخزن الى تأكسد المواد الفينولية وتحولها الى صبغة الميلانين **Melanin** وذلك بتجمع مركبات **O- quinones** بعد أكسدة مركبات الفينول بواسطة الأنزيمات المسؤولة عن التلون باللون البني ، ويعتقد أن أنزيم **Polyphenol Oxidase** هو المسؤول عن ظهور اللون البني ، فالمواد الفينولية قبل الأكسدة تُعد عديمة اللون ألا أن لونها يتغير الى البني بعد الأكسدة بفعل الأنزيم المذكور . بينما تشير دراسات أخرى الى أن أنزيم **Tyrosinase** هو المسؤول عن ظهور اللون البني وذلك لأحتواء هذا الأنزيم على ذرات من النحاس ، وهو أحد العوامل المساعدة في عملية **Hydroxylation** التي يتحول فيها ال **diphenols** الى **monophenols** ثم بعدها تحصل عملية أكسدة مركبات **O- quinones** والتي تتبلمر الى صبغات ذائبة بنية اللون تدعى بال **Melanin** .ويتم تقدير الفينولات بعدة طرق وسنوضح أحدها وهي طريقة **Arnow's** التي تعتمد على قياس الأمتصاص الضوئي .

طريقة Arnow's لتقدير الفينولات

يتم تقدير الفينولات حسب هذه الطريقة بقياس الأمتصاص الضوئي للمعقد اللوني الذي ينتج عن تفاعلات خاصة لكاشف أرنو **Arnow's reagent** مع **Ortho Dihydric Phenols** بأستخدام جهاز الطيف الضوئي **Spectrophotometer** على الطول الموجي **515** نانوميتر وتتم العملية وفق الخطوات الأتية :

(أ) تحضير المستخلص الكحولي :

+ أضف **10** مل كحول أثيلي تركيز **80%** لكل **1** غم من العينة

+ سخن في حمام مائي حتى درجة الغليان لمدة **10** دقائق ثم برد في حوض ماء بارد بعدها أسحق النموذج بأستخدام هاون خزفي ورشح بأستخدام قماش ناعم .

+ أعد أستخلاص المتبقي من العينة ب **5** مل من الكحول الأثيلي **80** %وسخن لمدة **3** دقائقثم رشح كما في السابق وأجمع الراشحين .

+ رشح مرة ثانية من خلال ورق الترشيح رقم **41** **Whatman** (ترشيح **98**% من **25−20 µm**) .

+ أكمل الحجم بالكحول ألأثيلي تركيز **80** % الى الحد الذي يعطي حجم نهائي قدره **10** مل لكل **1** غم من الوزن الطري للعينة . وأستخدم هذا المستخلص لتقدير الفينولات .

(ب) تحضير كاشف أرنو :

+ أعمل على أذابة **10** غم من نتريت الصوديوم ($NaNO_2$) و **10** غم من مولبيدات الصوديوم (Na_4MoO_2) في **100** مل ماء مقطر .

+ أحفظ المحلول في قنينة زجاجية معتمة ويمكن أستعماله لمدة سنة .

تقدير الفينولات

+ ضع **1** مل من المستخلص الكحولي للعينة المراد تقدير الفينولات فيها في أنبوبة أختبار .

+ أضف أليها **1** مل من حامض الهيدروكلوريك المخفف عياري **0.05** **HCl** .

+ أضف أليها **1** مل من كاشف أرنو و **10** مل من الماء المقطر .

+ أضف أليها **2** مل هيدروكسيد الصوديوم عياري **1** **NaOH** فيظهر حالآ لون وردي يقاس الأمتصاص اللوني له بجهاز **Spectrophotometer** على الطول الموجي **515** نانوميتر . ويتم تقدير تركيز الفينول **Ortho Dihydric Phenols** من المنحني القياسي **Standard Curve** للفينول النقي الكاتيكول $C_6H_4(OH)_2$ **Catechol** حيث تم أستعمال عدة تراكيز لتحضير المنحنى القياسي بحيث تكون أعلى من أعلى قراءة للعينات وأقل من اقل قراءة للعينات .

المصادر References

أولا- العربية

1- أبوضاحي ، يوسف محمد و مؤيد احمد اليونس (1988) دليل تغذية النبات – جامعة بغداد – وزارة التعليم العلي والبحث العلمي – العراق. (411 صفحة) .

2- الريس ، عبد الهادي جواد و عبد العظيم كاظم (1987) الفسلجة النباتية الجزء الأول – جامعة بغداد – وزارة التعليم العالي والبحث العلمي – العراق. (476 صفحة) .

3- الصحاف ، فاضل حسين (1988) تغذية النبات التطبيقي – بيت الحكمة – جامعة بغداد – وزارة التعليم العالي والبحث العلمي – العراق. (259 صفحة) .

4- الموسوي ، عبدالله حمد و حسين علي السعدي (1982) النبات العام العملي – جامعة البصرة – وزارة التعليم العالي والبحث العلمي – العراق.

5- إلهيتي ، إسماعيل خليل (1980) الأساس في التحليل الكيميائي الكمي والحجمي للمواد غير العضوية. جامعة صلاح الدين – وزارة التعليم العالي والبحث العلمي – العراق.

6- درهاب ، صبحي و محمد حامد إدريس (2006) فسيولوجيا النبات . مركز سوزان مبارك الاستكشافي العلمي. (264 صفحة) www.smsec.com .

7- شوقي ، احمد و بدري العاني و إبراهيم السهيلي و عباس احمد الصالح و عبدالهادي صالح و مجيد الحلي (1973) النبات العام . المجلد الأول للطلبة الجامعيين . مطبعة العاني – بغداد – العراق.(240 صفحة) .

8- محمد ، عبد العظيم و عبدالهادي الريس (1990) فسلجة النبات . الجزء الأول والثاني. طبع فرنسا –rotomag – Torcy – Sima 636 00633 (839 صفحة) .

9- ياسين ، بسام طه (2001) أساسيات فسيولوجيا النبات. جامعة قطر – الدوحة. قطر (634 صفحة) .

ثانيا"- الأجنبية

10- Adams, C. R., and M. P. Early (2004) Principles of Horticulture. Forth edition. ELSEVIER – Great Britain.

11- Alex , C. Wiedenhooft, Series editor William G. Hopkins (2006) Plant nutrition. Copyright by Infobase Publishing.

12 – Bajracharya , D. (1998) Experiments in Plant Physiology . Narosa Publishing House ,New Delhi Madras Bombay Calcutta London .pp 186 .

13 - Brown , L. V. (2002) Applied Principles of Horticutural Science. 2nd. ed. 319 pages.Butterworth Heinemann .

14- Hans, Lambers and Timothy D. Colmer (2005) Root Physiology from Gene to function. Vol. 4.Published by Springer.

15- Helgi öpik, Stephen A.Rolfe and Arthur J.Willis (2005) The Physiology of Flowering Plants. 4th ed. Cambridge University press. New York – USA.

16- Law , D. ; Malek ,I. and Henderson , Jo A. 2006 . Plant physiology and Biotechnology , laboratory Manual .Winter 2006 Lab and Course Outline ,pp 31 .

17-Lincoln, Taiz and Euduardo, Zeiger (2006) Plant Physiology. 2nd. ed.890 pages.http://3e. Plantphys.net/

18- Pondey, S. N., and B. K. Sinha (1972) Plant Physiology Vikas Publishing house PVT LTD New Delhi – 11014.

19 - Richard C. Leegood, Thomas D. Sharky and Susanne Van Caemmerer (2000) Photosynthesis Physiology and metabolism. Vol.9 Kluwer Academic Publishers.

20 - TESS expert / PHYWE (2009). Laboratory Experiments Biology ,School University . www . phywe.com .