جامعة الشهيد حمة لخضر
كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم البيولوجيا

الاعمال التطبيقية

السنة أولى ماستر تنوع حيوي و فيزيولوجيا النبات

د. قادري منيرة

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة الشهيد حمة لخضر الوادي

كلية علوم الطبيعة والحياة

السنة الثالثة بيولوجيا وفيزيولوجيا النبات

مقياس فيزيولوجيا النبات

العمل التطبيقي الأول

فصل الأصبغة النباتية باستعمال الكروماتوغرافيا الورقية

الأستاذة: قادري منيرة

.1

.2

3. التركيب الضوئي :

و هو ظاهرة كيميوحيوية يتم من خلالها تحويل الطاقة الضوئية إلى طاقة كيميائية كامنة ضمن جزيئات المادة العضوية وفقا للمعادلة التالية

- $nCO2+ 2nH2O \longrightarrow n(CH2O)+ n\ O2+ nH2O$

4. البلاستيدة الخضراء Chloroplaste:

تتكون البلاستيدة الخضراء من غشاء خارجي و غشاء داخلي يتفرع طوليا الى عدة صفيحات ممتدة تسمى تيلاكويدات و التي تتجمع في عدة مناطق على شكل اقراص متراكبة مشكلة ما يسمى بالغرانوم، يمثل الوسط الداخلي ستروما تشتمل على بعض المواد المركبة بينما يحتوي غشاء التلاكويد على الصبغات اليخضورية.

5. الأنظمة الضوئية :

على مستوى التيلاكويد يوجد نظامان ضوئيان PSII و PSI و هي عبارة عن معقدات بروتينية مرتبطة بالأصبغية النباتية المختلفة

6. صبغات البناء الضوئي photosynthèse pigment:

أ. صبغات الكلوروفيل:

تعتبر الكلوروفيلات تلك الصبغات الخضراء في النبات ، و من أهم الصبغات النشطة في عملية التركيب الضوئي و يمكننا تمييز 13 نوع منها على الأقل و هي كلوروفيل أ، ب،ج،د،هـ و الكلولورفيلات البكتيرية أوب، ج، د، هـ و كلورفيلات الكلوروبيوم 650 ،660

يعتبر الكلوروفيل أ و ب من أكثرها معرفة و سيادة و يوجدان في جميع الكائنات ذاتية التغذية فيما عدا البكتيريا المحتوية على الصبغات و من الجذير بالذكر أن الكلوروفيل ب لا يوجد في الطحالب الخضراء المزرقة و البنية الحمراء و لون الكلورفيل أ أخضر مزرق بينما كلوروفيل ب فهو أخضر مصفر

توجد الكلوروفيلات ج و د و ه فقط في الطحالب و تكون مختلطة مع كلوروفيل أ و أما الكلورفيلات البكتيرية و كلوروفيل الكلوربيوم فتوجد في بكتيريا الضوء التمثيلية

ب. أصبغة أشباه الجزرين

توجد أشباه الجزرين Caroténoides مرافقة اليخضور ضمن الصانعات الخضر في النباتات ذات التركيب الضوئي، تنتشر في جميع النباتات الراقية و كذلك في العديد من الكائنات الدقيقة بما فيها الطحالب الحمراء و الخضراء و بكتيريا التمثيل الضوئي

وتقسم إلى 3 مجموعات:

- الجزرينات: caroténes وهي أصبغة لا يدخل الأكسجين في تركيبها الكيمياوي، ومثالها الجزرين بيتا b-caroten ، الذي يمثل المصدر الرئيس لفيتامين أ في الطبيعة.
- الاكزانتوفيلات: xanthophylles يدخل الأكسجين في تركيب هذه الأصبغة، ويتبدل تركيبها الكيمياوي بحسب نوع الزمرة الكربونية - الأكسجينية، ومنها صباغ الليوتين lutein مثل الذي يوجد بكثرة في الأزهار والثمار الناضجة،

الليكوبين : Lycopene و هي صبغة حمراء توجد في ثمار

ج. صبغات الفيكوبلينات : Pycobilins

فصل الأصبغة النباتية بالكروماتوغرافيا الورقية

تقسم الفيكوبيلينات إلى ثلاث مجموعات صباغية هي: أصبغة الفيكوارترين phycoerytherin الحمراء و التي تتواجد في الطحالب الحمراء (Rhodophycées)وكل من أصبغة الفيكوسيانين phycocyanin ذات اللون الأزرق و التي تتواجد في الطحالب الزرقاء (Cyanophycées) و الألوفيكوسيانين allophycocyanin

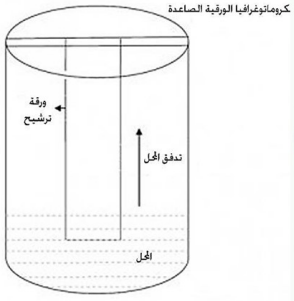
7. الكروماتوغرافيا

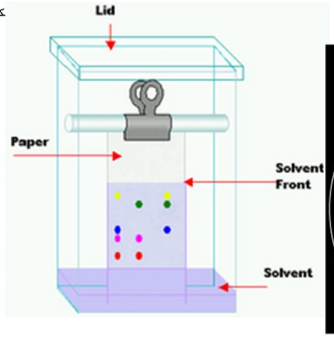
هي إحدى طرق فصل وتشخيص المركبات العضوية وتعني كلمة كروماتوغرافيا قديماً فصل المركبات الملونة نظرية الفصل تعتمد على توزيع الخليط المراد فصله بين سطحين مختلفين أحدهما يسمى بالطور الثابت Stationary phase و الاخر يسمى بالطور المتحرك Mobile phase

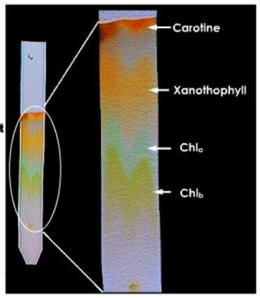
في الكروماتوغرافيا تمر المركبات المختلفة في الخليط مع السطح المتحرك على السطح الثابت حيث أن لكل مركب قدرة على الاحتكاك مع السطح الثابت و تختلف من مركب إلى آخر حيث يتم الفصل على السطح الثابت و بالتدريج تتحرك مع السطح المتحرك بعد ان يتم فصلها و هذا ما يسمى بالادمصاص adsorption و يعتمد الفصل على قابلية و رغبة المركب في التفاعل مع السطح الثابت فكلما كانت الرغبة قوية تعطل المركب عن الحركة

8. أنواع الكروماتوغرافيا

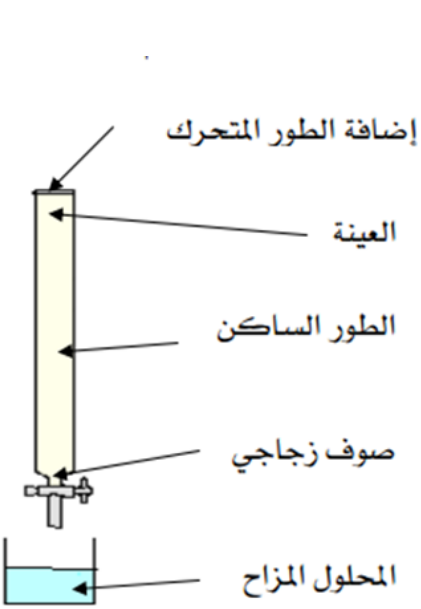
1. **الكروموتوغرافيا الورقية :** حيث تستخدم الورقة (الماء ممتز في جزيئات السليلوز) كسطح ثابت وتغمس هذه الورقة في محلول فيه مركبات مختلفة(طور متحرك) وعند مرور هذا السائل في الورقة من خلال الظاهرة الأسموزيه ، يتم فصل المركبات باستخدام هذه الورقة

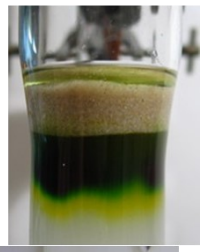


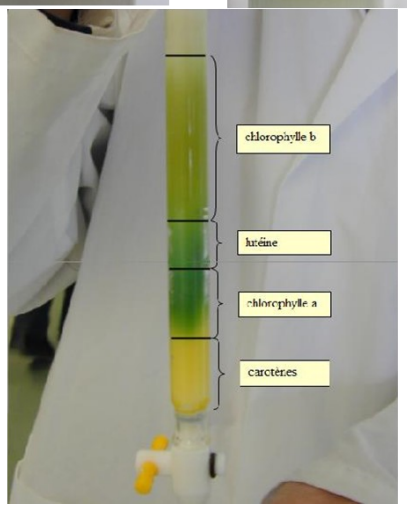




2. **كروموتوغرافيا الطبقة الرقيقة :** تشبه كروماتوغرافيا الورقة لكن الطور الساكن يكون صلب (مادة ادمصاص ناعمة (سليكا جال مطلية على الزجاج أو الالمنيوم)
3. **كروموتوغرافيا العمود:** وهذه أيضاً طريقة قديمة استخدمت في فصل المواد حيث يتم ملأ عمود مثل (السحاحه) بسطح الثابت ويتم وضع المركبات في السطح المتحرك (السائل) ثم يسمح لهذا السطح المتحرك بالمرور ويتم جمع المركبات المختلفة في الأسفل حيث تنفصل المواد ويتم دراستها كلاً على حدة .







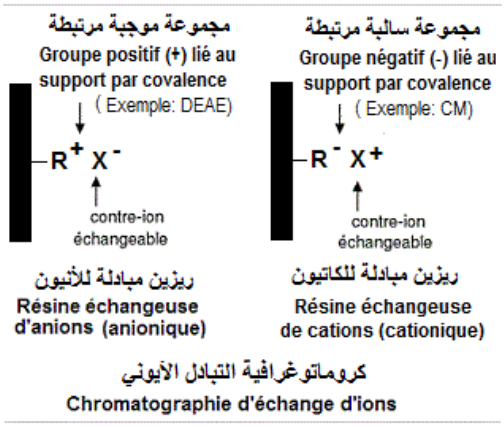
4. كروموتوغرافيا السائل ذو الأداء العالي High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

وهذا النوع يستخدم نفس الفكرة حيث يكون الوسط الحامل للمركبات هو السائل

5. كروموتوغرافيا الغاز : وأيضاً تستخدم نفس الفكرة حيث يكون هناك سطح ثابت ويكون السطح المتحرك عبارة عن غازات مثل الهيليوم

6. كروماتوغرافيا التبادل الأيوني:

هي عملية تبادل أيونات مادة صلبة غير قابلة للذوبان بأيونات أخرى لها نفس الشحنة وموجودة في وسط المحيط.



كروماتوغرافية التبادل الأيوني
Chromatographie d'échange d'ions

فصل الأصبغة النباتية بالكروماتوغرافيا الورقية

الصنف الثابت في هذا النوع عبارة عن مادة صلبة غير قابلة للذوبان (بوليمرية) تحتوي العديد من المجموعات الوظيفية الأيونية تعرف بالمبادلات ويتم الفصل عن طريق استبدال أيونات المادة الصلبة بأيونات المواد المراد فصلها.

الجزء العملي

1. **استخلاص اليخضور الخام**

- **قم بوزن 10 غ من الأوراق النباتية الخضراء**
- **قص الأوراق النباتية إلى قطع صغيرة.**
- **طحن الأوراق في مهراس هاون بمساعدة الرمل و بيكربونات الصوديوم.$NaHCO_3$**
- **إضافة 20 مل من الأسيتون مع استمرار الطحن .**
- **الترشيح**

2. **فصل الصبغات النباتية**

- **تحضير نظام المذيب و المتكون من 85% ايثر البترول و 10% اسيتون و 5 % سيكلوهكسان**
- **يرسم على ورق الكروماتوغرافيا خط البداية و النهاية على بعد 1 سم**
- **باستخدام ماصة شعرية نضع نقطة من مستخلص اليخضور الخام وسط خط البداية**
- **وضع ورقة الكروماتوغرافيا وسط حوض الفصل بحذر شديد ثم نغلقه بإحكام**
- **تأخذ النتائج بعد وصول المذيب إلى خط النهاية**

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية

الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة الشهيد حمة لخضر الوادي

كلية علوم الطبيعة والحياة

السنة الثالثة بيولوجيا وفيزيولوجيا النبات

مقياس فيزيولوجيا النبات

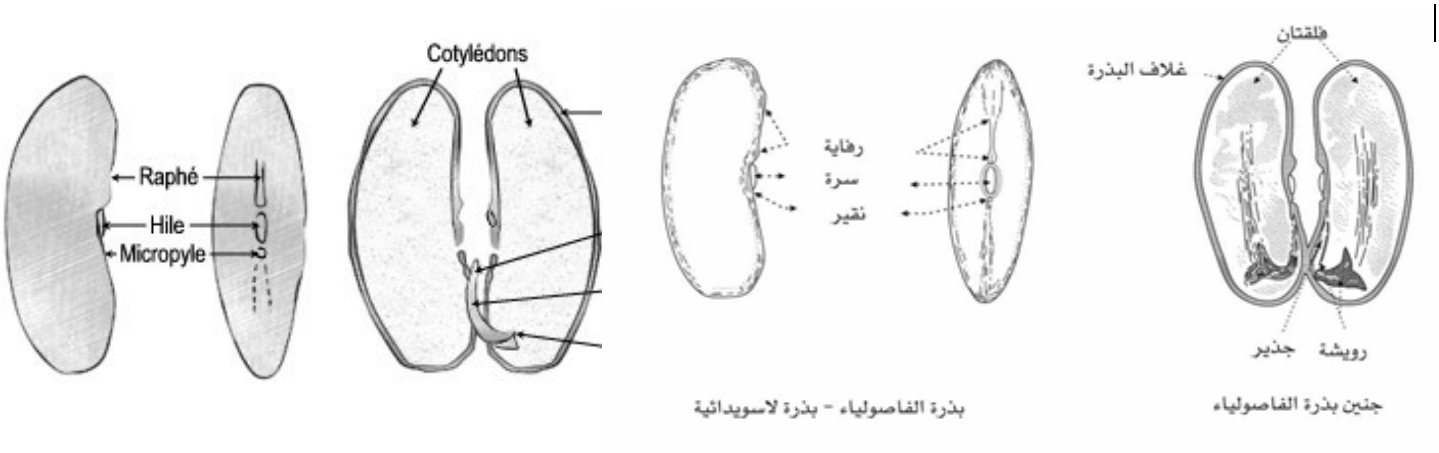
العمل التطبيقي الثاني

الكشف عن بعض المظاهر الكيميائية للإنتاش

الأستاذة: قادري منيرة

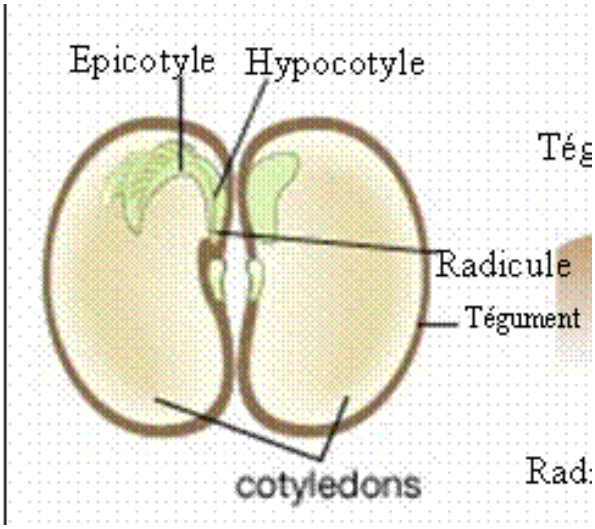
الظواهر الكيميائية للإنتاش

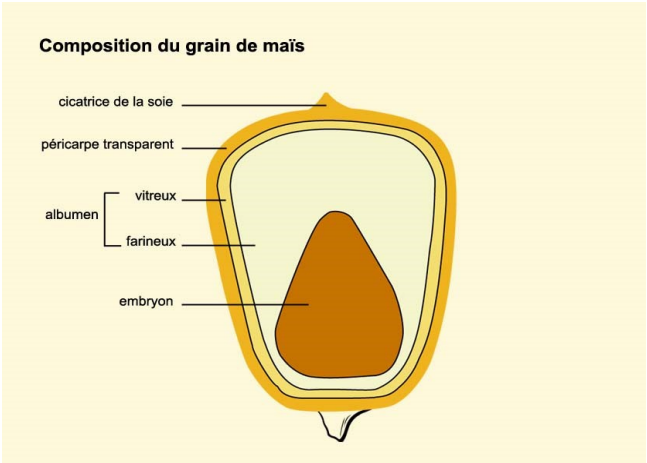
1. **البذرة : تتكون البذرة من ثلاث أجزاء أساسية و هي: الجنين _ المدخرات الغذائية – الغلاف :**



بذرة الفاصولياء – بذرة لاسويدائية

جنين بذرة الفاصولياء





2. مفهوم الإنتاش :

عملية الإنبات هي استعادة الجنين الساكن لنشاطه ونموه ، ويبدأ ذلك بتمزق أغلفة البذرة وخروج النبات الصغير منها . كما يكن تعريف الإنبات بأنها الخطوات المتتابعة التي تبدأ بامتصاص البذرة للماء و التي يتبعها تمزق غطاء البذرة و ظهور الجذير و و الريشة و يصاحب تلك المظاهر المورفولوجية انقسام الخلايا و استطالتها مع زيادة النشاط الحيوي من هضم للغذاء و تمثيله.

3. الظواهر المصاحبة لعملية الإنتاش

تطرأ على البذرة عند إنباتها ثلاثة أنواع من التغيرات هي :

1- تغيرات فيزيائية (طبيعية):

وهي تحدث في كل البذور عند نقعها في الماء أو عند وضعها في تربة رطبة وتشمل امتصاص البذرة للماء ، انتفاخها ، زيادة حجمها ، وما يلي ذلك من زوال التجعدات بالقصرة حتى تصبح ملساء ثم تمزقها بعد ذلك نتيجة ازدياد الضغط عليها من الداخل.

2- تغيرات كيميائية:

أهمها تحول المواد الغذائية المختزنة من صورة غير ذائبة إلى صورة ذائبة ليمتصها الجنين ، فيتغذى وينمو ويكبر ويحدث هذا التحول الغذائي بواسطة مواد خاصة تسمى إنزيمات تقوم بتكوينها المادة الحية في أنسجة الفلقات أو غيرها من أجزاء البذرة الحية ، تلك الأجزاء تنشط نشاطاً ملحوظاً بعد إمتصاصها للماء . وأهم المواد الغذائية هي النشاء الذي يحتاج إلى أنزيم الأميلاز و المالتاز ليتحول إلى سكر أحادي (جلوكوز) ، والمواد البروتينية تحتاج إلى أنزيم البروتياز لكي تتحول إلى أحماض أمينية ، أما الدهون والزيوت فتحتاج إلى أنزيم الليباز لكي يتم تحويلها إلى صورة بسيطة على شكل جليسيرين وأحماض دهنية ويوجد النشاء في الحبوب كالقمح والشعير والذرة ، والبروتين في بذور الفول والترمس والفاصوليا أما الزيوت فتوجد في بذور السمسم والخروع والقطن .

كما يلاحظ زيادة محتوى RNA في فلقات البذور النباتية ، يلاحظ أيضا زيادة واضحة في نشاط انزيمات الفوسفاتاز التي تقوم بتحليل حمض الفيتيك الذي يحتوي على نسبة كبيرة من الفوسفات و المغنيسيوم و البوتاسيوم و الذي يرتبط مع الأجسام البروتينية

يلاحظ ارتفاع معدل التنفس مع زيادة نشاط الانزيمات المرتبطة بعملية التنفس .

3- تغيرات أحيائية:

وهي تعتبر أهم أنواع التغيرات جميعاً وهي تعقب النوعان الآخران ، تنشط فيها الخلايا الإنشائية التي يتكون منها الجنين ، فتنقسم ، ثم تزداد الخلايا الناتجة في الحجم ، ونتيجة لهذا النمو يضرب الجذير في باطن الأرض وتخترق الريشة سطح الأرض لتنمو فوقه وبذلك تتحول البذرة إلى ما يعرف بالبادرة ، وتكبر البادرة وتكون أوراق خضراء وتتحول تدريجياً إلى النبات الكامل الذي يعتمد على نفسه في بناء غذائه.

الجزء التطبيقي

طريقة العمل:

- ضع بذور الذرة في الماء لمدة 3 سا
- استنبت بذور الذرة (*Zea mays*) لفترات متباعدة
- خذ 5 بذور مختلفة مراحل الانبات و قم بنزع الجنين منها
- قطع البذور إلى قطع صغيرة ثم قم بسحقها و ذلك بعد اضافة 5 – 10مل من الماء المقطر
- اتركها لتهدأ مدة 5– 10 د ، ثم رشح
- قسم الراشح إلى قسمين
- أضف للقسم الأول ماء اليود
- اضف للقسم الثاني قطرات من محلول فهلنج مع التسخين

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة الشهيد حمة لخضر الوادي
كلية علوم الطبيعة والحياة
السنة الثالثة بيولوجيا وفيزيولوجيا النبات
مقياس فيزيولوجيا النبات

العمل التطبيقي الثالث

الأسموزيةOsmose

الهدف من العمل التطبيقي

إظهار خاصية الاسموزية عند النبات

الأستاذة: قادري منيرة

الإسموزية
Osmose

1. المحلول :

يحوي المحلول على مادتين او أكثر و تكون إحداها و المسماة بالمادة المنحلة أو المادة الذائبة منتشرة في المادة الأخرى و المسماة بالمذيب أو وسط الانتشار

2. أقسام المحاليل:

تقسم المحاليل على أساس درجة تجزئة المادة المنحلة و بحسب حجم الدقائق في وسط الانتشار إلى:

- **محاليل حقيقية True Solutions**

يسمى محلولا حقيقيا إذا تجزأت المادة المنحلة في وسط الانتشار إلى جزيئات أو شوارد تبقى معلقة فيه مهما طال الزمن أي لا تترسب و لا يمكن رؤيتها بأدق الألات البصرية و من أمثلة ذلك سكر القصب أو ملح الطعام في الماء

- **المعلقات Suspensions**

الحبيبات لا تذوب في الماء بل تنتشر فيه ، حيث تتجزأ هذه المادة إلى دقائق يمكن ملاحظتها بالعين المجردة و يكون المعلق غير ثابت لنه يترسب بفعل الجاذبية الأرضية ، مثل الطين أو التراب مع الماء

- **المستحلبات Emultions**

أفضل مثال هو الزيت مع الماء مع الرج الشديد حيث نلاحظ أن الزيت يتجزأ إلى قطرات صغيرة الحجم تتعلق مع جزيئات الماء مشكلة ما يسمى بالمستحلب ، و إذا ترك هذا المستحلب فترة من الزمن يطفو الزيت فوق الماء فهو محلول غير ثابت

- **الغرويات Colloids**

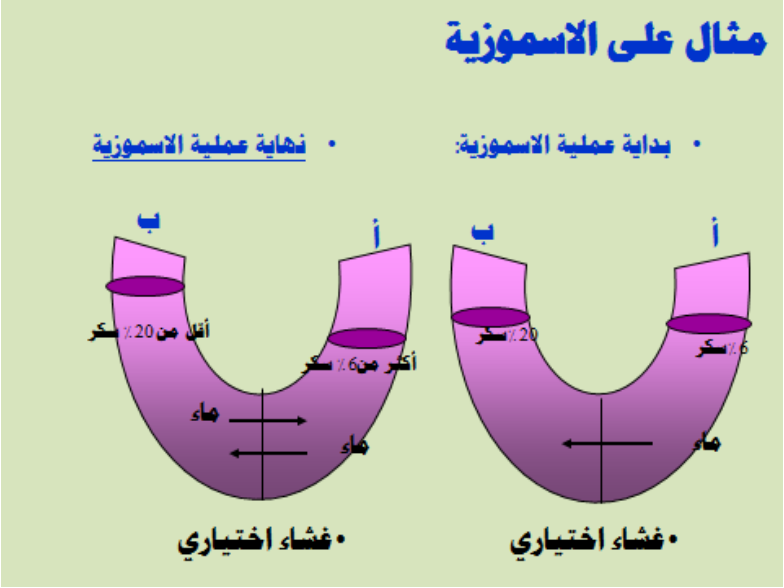
المحلول الغروي وسط بين المحلول الحقيقي من جهة و المعلق و المستحلب من جهة أخرى ، حيث تتجزأ المادة المنتشرة إلى دقائق صغيرة جدا لكن لا تكون بحالة شوارد أو جزيئات و في هذه الحالة تبقى المادة منتشرة معلقة في وسط الانتشار مهما طال الزمن و منه نقول أن المحلول الغروي ثابت و من أمثلة ذلك مطبوخ النشاء ، محلول الجيلاتين، البروتوبلازم

محلول حقيقي < 0.001µm < محلول غروي < 0.1µm < معلق أو مستحلب

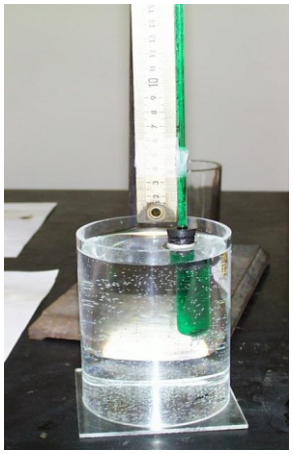
الإسموزية
Osmose

3. الأسموزية Osmose :

هي انتشار المذيب عبر غشاء له خاصية النفاذية الإختيارية من المحلول الأقل التركيز إلى المحلول الأكثر تركيز



4. الضغط الأسموزي:



هو الضغط اللازم لمنع زيادة محلول ما نتيجة دخول الماء إليه عبر غشاء نصف نفوذ عديم المرونة

الإسموزية
Osmose

5. الخلية كنظام اسموزي :

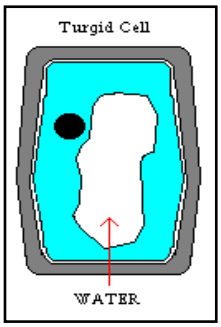
اذا وضعت خلية نباتية بالغة مرتخية وفجوة عصارية كبيرة فى ماء نقى (مقطر) فان الماء يدخل الى داخل الخلية لأن الضغط الاسموزي للماء في العصير الخلوي أقل من خارج الخلية و يطلق عليه بقوة الامتصاص الأسموزية ، ويسبب انتفاخ الخلية ويسمى بضغط الإمتلاء turgescence pression فيضغط على السيتوبلازم فيتمدد للخارج ويضغط على الجدار الخلوى فيحدث للجدار الخلوى ضغطا مساويا ومعاكس فى الاتجاه الضغط الإمتلائي ويسمى الضغط الجدارى Pression paroi و منه

قوة الامتصاص الآسموزية = الضغط الاسموزي للعصير الخلوي – (ضغط الإمتلاء + الضغط الآسموزي للمحلول الخارجي)

6. أنواع المحاليل حسب الإسموزية

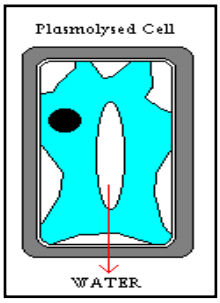
محلول ناقص الإسموزية :

هو المحلول الذي يكون ضغط الإسموزية أقل من الضغط الإسموزي للعصير الخلوي لهذا النبات وهذا المحلول يسبب امتلاء للخلايا النباتية (الإنتباج Turgescence)



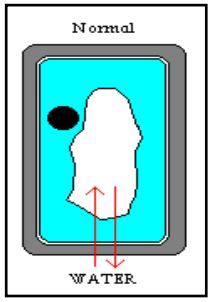
محلول زائد الإسموزية:

هو المحلول الذي يكون فيه الضغط الإسموزي أعلى من الضغط الإسموزي للعصير الخلوي لهذا النبات وهذا المحلول يسبب البلزمة للخلايا النباتية



المحلول سوي الإسموزية :

هو المحلول الذي يتساوى الضغط الإسموزي مع الضغط الإسموزي للعصير الخلوي لهذا النبات وهذا المحلول لا يسبب امتلاء أو بلزمة الخلايا



7. العوامل المؤثرة على الإسموزية

- تركيز الوسط الخارجي

- موقع النسيج النباتي
- الضوء
- النتح
- درجة الحرارة
- الوقت من اليوم و السنة

8. دور الاسموزية في النبات

- يساعد عملية إمتصاص الماء من التربة
- بقاء الأنسجة في حالة امتلاء مما يسهل الإستقلاب الغذائي
- يساعد على تمدد الخلايا
- توزيع الماء في جميع أجزاء النبات
- انفتاح و انغلاق الثغور

الإسموزية
Osmose

الجزء العملي

النباتات المستعملة:

درنات البطاطا

الأدوات المستعملة:

أنابيب اختبار- شفرة – ورق مليلمتري – ماصة – مثقاب لولبي – ملاقط

المحاليل المستعملة:

محلول سكاروز 1 مولاري – ماء مقطر

طريقة العمل :

- **حضر اعتبارا من محلول أساسي ذو تركيز 1 mol/L**

التراكيز التالية لمحلول السكاروز (0,2 – 0,5 — 0,8) حيث : $V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$

- **تؤخذ درنات البطاطا و تغسل و تجفف جيدا**
- **استعمال الثاقب اللولبي للحصول على اسطوانات متجانسة**
- **خذ من كل اسطوانة قطع ذات طول(L_1) و سجل الطول بالاستعانة بورق المليمتري**
- **ضع الاسطوانات في المحاليل السابقة (اسطوانة في كل أنبوب)**
- **تترك الأنابيب لمدة ساعة .**
- **تخرج القطع السابقة المغمورة بالمحاليل و توضع على ورق مليمتري للحصول على الطول الجديد (L_2).**

الإسموزية
Osmose

المطلوب :

- **أحسب فرق الطول لقطع البطاطا (ΔL).**
- **مثل بيانيا فرق الطول التي تحصل عليها بدلالة التركيز.**
- **استنتج قيمة نقطة التعادل السوية و التي يتساوى فيها ضغط الإسموزي للعصير الخلوي مع الضغط الإسموزي الخارجي.**
- **ماذا يحصل لطول قطعة البطاطا في هذه الحالة ؟ فسّر .**
- **حدد الأخطاء الحاصلة في التجربة و إلى ما ترجع أسبابها ؟**

تركيز السكاروز (عياري)	0	0,2	0,5	0,8	1
الطول الإبتدائي (L1)					
الطول النهائي (L2)					
فرق الطول (ΔL)					

الأعمال الشخصية

اظهار الإمتصاص الإسموزي بطريقة الإنحناء

الغرض من التجربة :

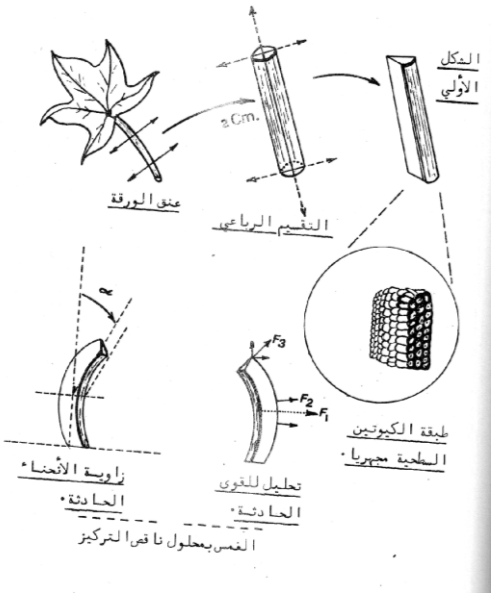
إظهار الإمتصاص الإسموزي بطريقة الإنحناء

المواد والأدوات :

أطباق بتري - شفرات - أعناق أوراق الخروع- محلول كلوريد الصوديوم مختلف التراكيز- ماء مقطر

طريقة العمل:

- ★ نحضر محاليل مختلفة التركيز من كلوريد الصوديوم (1N , 0 ، 0,3 ، 0, 5 ،0, .7 ، 0 ، 0,9) وماء مقطر.
- ★ تقطع أعناق أوراق الخروع الحديثة العمر بطول 2 سم
- ★ تقسم كل قطعة إلى أربعة أقسام متجانسة حسب الشكل
- ★ ترسم كل قطعة من هذه القطع على ورق شفاف
- ★ تغمس هذه القطع في المحاليل المحضرة
- ★ تترك القطع لمدة 30 – 40 دقيقة
- ★ تخرج القطع في آن واحد و تجفف و ترسم من جديد



المطلوب :

1. رسم و وصف الملاحظة العينية لكل القطع قبل و بعد وضعها في المحلول .
2. تحديد المحاليل سوية الأسموزية ، زائدة الاسموزية و ناقصة الاسموزية
3. لديك 4 خلايا نباتية لها ضغط إمتلاء = 0 ضغط جوي و الضغط الاسموزي للعصير الخلوي = 10 ضغط جوي ، و على فرض أن: - حجم الخلايا متساوي – حجم المحلول الخارجي كبير بالنسبة لحجم الخلايا – درجة حرارة الخلايا متساوية – الأغشية الخلوية نفوذة للماء و غير نفوذة للأملاح – جدران الخلايا على درجة واحدة من المرونة

الخلية الأولى: وضعت في الماء المقطر

الخلية الثانية : وضعت في محلول ضغطه الإسموزي يساوي 6 ضغط جوي

الخلية الثالثة : وضعت في محلول ضغطه الإسموزي يساوي الضغط الإسموزي للخلية

الخلية الرابعة: وضعت في محلول ضغطه الإسموزي يساوي 14 ضغط جوي

المطلوب:

1. أحسب قوة الامتصاص الإسموزية في كل حالة
2. ما هو ضغط الإمتلاء اللازم للوصول إلى حالة الاتزان الديناميكي

3. اشرح حالة الخلية في كل حالة (أنتباج ، بلزمة)