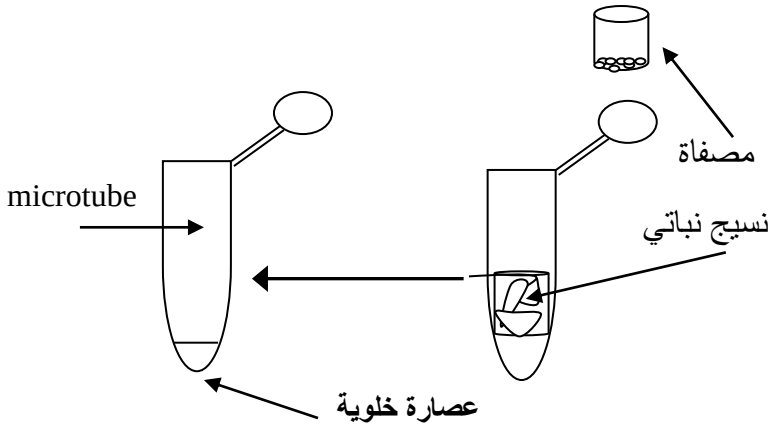
تقدير التعديل الأسموزي

- استخلاص العصارة النباتية:

بعد قطع الأوراق من النبـات وتقسيـمها إلى قطع صغيـرة (1 سم) يتم وضعها مبـاشرة في أكياس بلاستيكية صغيرة ثم غمرها في الأزوت السائل لمدة 60 ثانية وهذا قصد تجميدها وقتلها آنيا. تم بعد ذلك يتم إخراج الأكياس البلاستيكية وتترك على طاولة المخبر لمدة 15 دقيقة في درجة حرارة الغرفة لإذابتها وارتخائها.

تستخرج القطع الورقية من الأكياس البلاستيكية وتوضع في مصفاة وتُدخَل في الأنابيب الدقيقة Microtube ذات حجم 1.5مل مجهزة بأغطية. ثم تجرى عليها عملية طرد مركزي (6000 دورة/دقيقة) لمدة 10دقائق. ثم تجمع العصارة الموجودة في قاع الأنابيب الدقيقة بواسطة ماصة دقيقة Micropipette، ثم تحفظ العينات في المجمد في درجة حرارة (-5 ^{0} م) إلى غاية إجراء التحاليل والقياسات عليها.



شكل 2 -22 : طريقة استخلاص العصارة الخلوية باستعمال الآزوت السائل ثم الطرد المركزي

- تقدير الجهد الأسموزي ($\Psi\pi$):

يستخدم جزء من العصارة المحفوظة سابقا في المجمد بعد إذابتها في قياس الجهد

الأسموزي بواسطة جهاز الأسمومتر المعتمد على نقطة التجمد أو المعتمد على ضغط التبخر، وذلك بعد معايرة الجهاز بواسطة محاليل قياسية معلومة المولارية من ملح الطعام NaCl و ماء مقطر.

جهاز الأسمومتر المعتمد على التجمدية يقوم بتحسس درجة تجمد محلول 1 مول من سكروز جهده الأسموزي 22.7 بار أو22.4 ض ج تجريبيا يتجمد في درجة -1.86°م بالطريقة الثلاثية يمكن معرفة الجهد الأسموزي لمحلول معلوم درجة التجمد.

وبالعودة إلى موضوع العلاقات المائية و قياس الجهد الأسموزي يتوضح لنا.

تحول القراءات المعطاة من الجهاز بوحدات الميلي مول/كلغ إلى وحدات الجهد الأسموزي المقاس عادة بوحدات الضغط (بار أو ميغاباسكال MPa) حسب القاعدة:

1 Atm= 0.1Mpa = 1bar = 40 mMol/Kg

على اعتبار أن 40 ميلي مول/ل من سكر درجة تأينه = 1 يعطي جهد أسموزي قدره 1 ض ج.

$$\Psi = - CRTi$$

$$= -0,040 \ . \ 0,082 \ . \ 273 \ . \ 1$$

$$\cong 0,98 Atm \cong 1 Bar$$

- تقدير المحتوى النسبي للماء Relative Water Content**:**

يتم تقدير المحتوى النسبي للماء في الأوراق وذلك بوزن الورقة بعد قطعها مباشرة لتحديد الوزن الرطب عند أخذ العينة (FW). ثم تقطع بعد ذلك الورقة إلى قطع صغيرة (1سم) وتترك لتطفو فوق سطح ماء مقطر داخل طبق بتري عند درجة حرارة الغرفة لمدة 4 ساعات. تنزع القطع الورقية من طبق بتري بعد انتهاء المدة، وتتم إزالة الماء الزائد والعالق بسطح القطع الورقية باستخدام ورق نشاف. توزن القطع الورقية ثانية لتحديد الوزن بعد التشبع (TW) وتجفف بعد ذلك كليا في الحاضنة في درجة 70 ^{0}م لمدة 48 سا وتوزن بعدها لتحديد الوزن الجاف (DW).

بتم حساب المحتوى النسبي للماء RWC حسب العلاقة المقترحة من طرف (Weatherly, 1950) والمعدلة من طرف (Barrs & Weatherly, 1962) كما يلي:

$$RWC = \frac{FW - DW}{TW - DW} \times 100$$

- حساب الجهد الأسموزي عند الانتفاخ التام (π_{100}):

يهدف حساب هذه العلاقة لتوحيد الحالات المائية للنباتات. يتم تقدير الجهد الأسموزي عند الانتفاخ التام $\Psi\pi_{100}$ باستعمال العلاقة المقترحة من طرف (Wilson *et al*, 1979) بافتراض أن النسيج الورقي يحتوي 10% من الماء المرتبط وأن هذه النسبة لا تتغير تحت ظروف الإجهاد (Wilson *et al*, 1980).

$$\Psi\pi_{100} = \frac{\pi(RWC - 10)}{90}$$

- حساب التعديل الأسموزي ($\Psi\pi\Delta_{100}$):

يتم تقدير التعديل الأسموزي بطريقة (Ludlow *et al*, 1983) وذلك بحساب الفرق في $\Psi\pi_{100}$ بين النباتات الشاهدة والمعاملة بالإجهاد المائي حسب العلاقة:

$$\Psi\pi\Delta_{100} = \Psi\pi_{c100} - \Psi\pi_{s100}$$

حيث $\Psi\pi_{c100}$: الجهد الأسموزي عند الانتفاخ التام للنباتات الشاهدة.

و $\Psi\pi_{s100}$: الجهد الأسموزي عند الانتفاخ التام للنباتات المجهدة مائيا.

و $\Psi\pi\Delta_{100}$: التعديل الأسموزي.

تمرين 1

نبات س في حالة وفرة ماء قدر جهده الأسموزي بـ - 10بار، وقدر محتواه النسبي من الماء بـ 91 % في حالة جفاف قدر جهده الأسموزي بـ - 9 بار ومحتواه النسبي من الماء 90% .

- هل قام بعملية تعديل أسموزي؟ ما مقدارها؟

تمرين 2

نبات س قدر جهده الأسموزي في حالة وفرة ماء بـ - 9 بار ومحتواه النسبي من الماء 91 %

عرض هذا النبات إلى جفاف مستمر لمدة أسبوعين، ثم قدر جهده الأسموزي وهو في حالة جفاف بـ - 14 بار، و محتواه النسبي من الماء بـ 73% .

-هل قام بعملية تعديل أسموزي؟ أم تركيز للبروتوبلازم فقط ؟ ما مقدار ذلك ؟