****

**373 نبت**

**فسيولوجيا النمو**

**تأثير أندول حمض الخل وحمض الجبريليك والسيتوكينينات على**

**تكوين الكلوروفيل في فلقات الخيار**

**Influence of IAA, GA3 and Cytokinin upon Chlorophyll**

**Formation in Cucumber Cotyledons**

معروف أن البادرات النامية في الظلام تكون شاحبة اللون مستطيلة ولونها أصفر باهت ، ويعود السبب إلى تكوين صبغة الكاروتينويدات في الظلام وعدم تكوين صبغة الكلوروفيل . والبلاستيدات المتكونة في هذه البادرات الشاحبة ذات نظام غشائي صفائحي شبكي منتظم تدعى البلاستيدات الشاحبة ( **Etioplasts** ).

**المواد والأدوات اللازمة :**

* (**84 بادرة**) خيار منماة في الظلام
* أطباق بتري (**عدد 12**)
* شفرات حادة
* أوكسين سيتوكينين ، جبرلين
* إضاءة فلورسنت
* هاون ( **Mortar and pestle** )
* أسيتون
* جهاز طرد مركزي
* مخبار مدرج (**10 سم**)
* (**12 أنبوبة** ) اختبار مع الأغطية
* جهاز قياس الطيف ( **Spectrophotometer** )



|  |  |
| --- | --- |
| Dish No |  Solution |
| 1 | Cytokinin ( Kinetin 0.01 μg/ml) |
| 2 | Cytokinin, 0.01 μg/ml |
| 3 | Cytokinin, 0.1 μg/ml |
| 4 | Cytokinin, 1.0 μg/ml |
| 5 | Cytokinin, 10 μg/ml |
| 6 | IAA 0.1 μg/ml |
| 7 | IAA 1.0 μg/ml |
| 8 | IAA 10 μg/ml |
| 9 | GA3 0.1 μg/ml |
| 10 | GA3 1.0 μg/ml |
| 11 | GA3 10 μg/ml |
| 12 | Buffer control |

**طريقة العمل :**

جدول يوضح تراكيز منظمات النمو المطلوب استخدامها في التجربة

* اقطعي الفلقتين تحت إضاءة خفيفة جداً واتركيها ملتحمة
* ضعي سبعة أزواج من الفلقات في كل طبق يكون محتوياً على (**3مل**) من كل من التراكيز الموضحة في الجدول
* اتركي الفلقات في المحاليل في غرفة مظلمة لمدة (**14 ساعة** ) عند درجة حرارة الغرفة ويمكن أن تمدد هذه الفترة إلى أكثر من (**14 ساعة** ) على أن تكون لكل المحاليل مدة واحدة
* ضعي بعد ذلك كل الأطباق تحت إضاءة كافية فلورسنت لمدة ثلاث ساعات
* إستخلصي بعد ذلك الكلوروفيل من كل سبعة أزواج من الفلقات على حدة بالطحن في الهاون ، مستعملة الأسيتون 2 – 3 مل وبعد أن تكتمل عملية الإستخلاص أضيفي (**2 مل** ) أسيتون ثم ضعي المحتويات في أنبوبة طرد مركزي ، واغسلي الهاون بـ (**2 مل** ) أسيتون واجمعيها في أنبوبة الطرد المركزي
* بعد أن تستخلصي كل الكلوروفيل من كل معاملة على حدة اعملي الطرد المركزي عند (**2000 دورة** ) أو أكثر لمدة (**3 دقائق** ) أو أكثر
* أجمعي كل معاملة على حدة في أنبوبة اختبار ( **12 معاملة** ) مدرجة أو مخبار مدرج سعته (**10 مل** ) ثم أكملي الحجم إلى (**10 مل** ) بالأسيتون
* احتفظي بكل محلول في أنبوبة اختبار يغطى في الظلام ( **الثلاجة** ) حتى تضمنى عدم تلف الكلوروفيل
* إقرئي بواسطة جهاز الطيف ( **Spectrophotometer** ) عند (**652 nm**) مستعملة الأسيتون كضابط لكل المعاملات التي عندك وسجلي نتائجك مستعينة بالجدول
* أرسمي العلاقة بين الإمتصاص ( **Absorbance** ) وتركيز الهرمون

