الجلسة الثامنة

الانتشار Diffusion والتناضح (أو الحلول) Osmosis

الهدف: دراسة تأثير محاليل مختلفة التوتر الحلولي على الخلايا الحية.

المفردات: الانتشار، التناضح/الحلول، منخفض التوتر الحلولي Hypotonic، متساوي التوتر الحلولي Isotonic، مرتفع التوتر الحلولي Hypertonic ، البلزمة Plasmosis، خلايا قشرة البصل، كريات الدم الحمراء.

مقدّمة:

يعدّ مفهوم انتشار الجزيئات أحد المبادئ الفيزيائية الأساسية ذات التطبيقات الهامة في بيولوجيا الخلية، حيث تسعى الجزيئات دائماً إلى تحقيق التوازن في تراكيزها على طرفي غشاء نصف نفوذ semi-permeable أو ضمن الحيّز المتاح لها (أنبوب أو دورق أو خلية)، فالجزيئات المشكّلة لقطرة الحبر تنتشر في المحلول ليتجانس تركيزها في كافة أجزائه.

من جهة أخرى، تمتلك الخلية غشاءً سيتوبلازمياً يفصلها عن البيئة المحيطة بها ويحميها من التغيرات التي قد تطرأ على تلك البيئة سواءً من حيث زيادة أو انخفاض تراكيز الجزيئات أو التغير في أنواعها (راجع الفصل الخامس من كتاب بيولوجيا الخلية للسنة التحضيرية) وغشاء الخلية هو غشاء نصف نفوذ يسمح انتقائياً للجزيئات الصغيرة غير المتشردة (كغاز O_2 وغاز CO_2) أن تعبر خلاله من خارج الخلية إلى داخلها أو من داخل الخلية إلى خارجها وذلك بحسب تراكيز تلك الجزيئات، وبحيث تكون حركة الجزيئات من التركيز الأعلى باتجاه التركيز الأدنى، بينما لا يسمح الغشاء للجزيئات كبيرة الوزن الجزيئي أو تلك المتأيّنة (المتشرّدة) من العبور بين طرفيه إلا من خلال آليات عالية التنظيم والدقة تتواسطها بروتينات غشائية نوعية لكل من الجزيئات.

أما بالنسبة لحركة جزيئات الماء فهي تتم من المحاليل والأوساط ذات التراكيز الأدنى للأيونات (الشوارد) إلى المحاليل ذات التركيز الأعلى للأيونات. وهنا أيضاً يمكن اعتبار عدد جزيئات

الماء أعلى في المحلول ذي تركيز الأيونات المنخفض بينما يكون عدد جزيئات الماء أقل في المحلول ذي تركيز الأيونات المرتفع، وبالتالي أيضاً بالنسبة للماء فهو يحقق التوازن في عدد جزيئاته بانتقالها من التركيز الأيوني الأدنى إلى التركيز الأيوني الأعلى.

تسمى حركة الجزيئات والأيونات عبر الغشاء بالانتشار Diffusion، بينما تسمى حركة جزيئات الماء بالتناضح أو الحلول Osmosis.

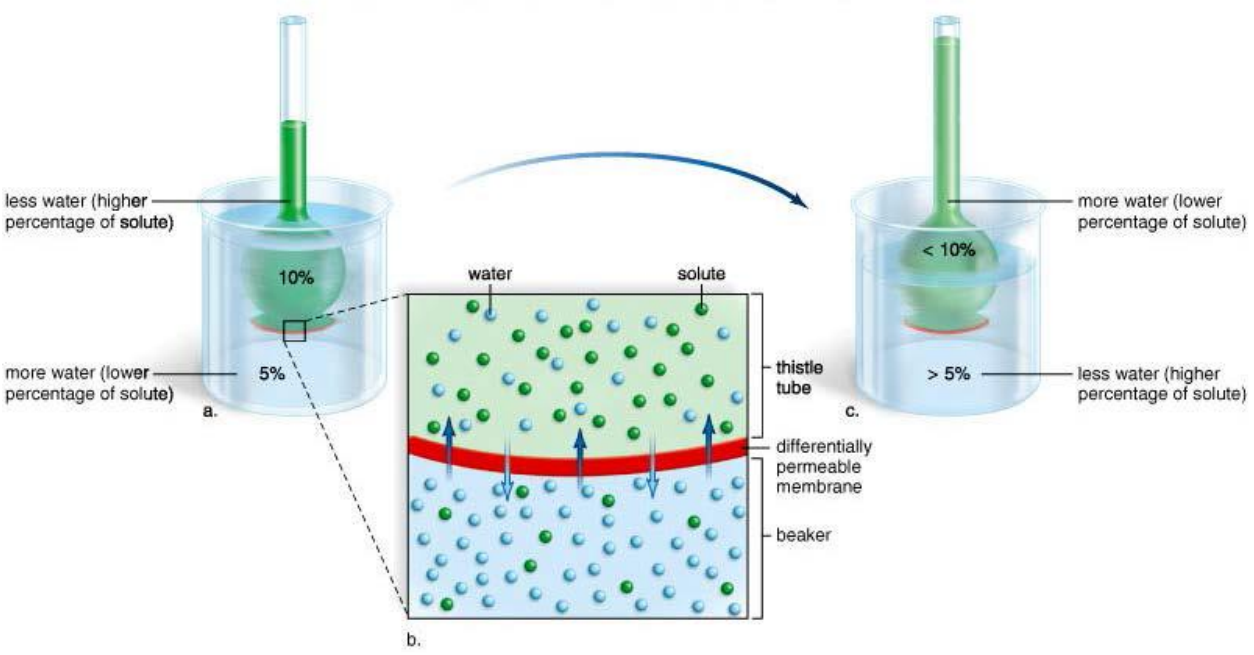
ومن إحدى التجارب البسيطة لتوضيح حركة الماء والجزيئات المنحلة به نذكر التجربة التالية (الشكل 8 - 1)

إذا وضعنا في بيشر محلول للسكاروز بتركيز 5% وغمسنا فيه دورقاً ذا نهاية مفتوحة تم إغلاقها بغشاء نصف نفوذ، ووضعنا في الدورق محلولاً للسكاروز بتركيز 10%. نسجل بعد مضي حوالي 15 إلى 30 دقيقة الملاحظات التالية:

- أصبح تركيز محلول السكاروز في البيشر أعلى من 5%.
- أصبح تركيز محلول السكاروز في الدورق أقل من 10%.
- انخفض مستوى المحلول في البيشر بينما ارتفع مستوى المحلول في الدورق.

تُفسَّر هذه النتائج بحركة كل من جزيئات الماء وجزيئات السكاروز. فجزيئات الماء انتقلت من المحلول في البيشر إلى الدورق) من التركيز الجزيئي الأدنى إلى الأعلى، بينما انتقلت جزيئات السكاروز من المحلول في الدورق إلى البيشر من التركيز الجزيئي الأعلى إلى الأدنى. وهكذا، فإن كلاً من جزيئات الماء والسكاروز انتقلت بحيث تحاول تحقيق التوازن بين طرفي الغشاء نصف النفوذ.

إن لهذا المبدأ تطبيقات هامة جداً على صعيد الخلايا الحية. وعلى الرغم من امتلاك الخلايا لآليات معقّدة جداً للتآثر مع بيئاتها المحيطة بها، فإنها غالباً ما تتأثر بتراكيز المواد المنحلة في الماء خارج الخلية ويمكن أن ينعكس ذلك بتغيرات في شكل الخلايا أو وظائفها إلى أن ينتهي ذلك بموت الخلايا.



الشكل 8 – 1 تجربة الانتشار والتناضح.

ونكون هنا أمام ثلاثة خيارات بالنسبة لتراكيز المحلول خارج الخلايا:

- **المحلول متساوي التوتر الحلولي Isotonic:** ويكون تركيز المواد المنحلة في المحلول خارج الخلايا مساوٍ لتركيزها داخل الخلايا.
- **المحلول منخفض التوتر الحلولي Hypotonic:** ويكون تركيز المواد المنحلة في المحلول خارج الخلايا أخفض من تركيزها داخل الخلايا.
- **المحلول مرتفع التوتر الحلولي Hypertonic**: ويكون تركيز المواد المنحلة في المحلول خارج الخلايا أعلى من تركيزها داخل الخلايا.

وسنرى في تجربتنا تأثير هذه المحاليل الثلاثة على:

- خلايا نباتية تحتوي على فجوات مركزية.
- خلايا حيوانية عديمة النوى كالكريات الحمراء.

متطلبات الجلسة العملية:

- مشرط أو شفرة
- صفائح وسواتر مجهرية

- محلول اليود اليودي
- ممصات باستور
- أنابيب سعة 15 مل (زجاجية أو بلاستيكية) وأنابيب ابندورف Eppendorf سعة 1.5 مل.
- محلول ملحي مركز Phosphate Buffered Saline (PBS) 10X يجري تمديد جزء منه إلى 1X وجزء إلى 0.45X.
- أنابيب سحب دم تحوي على مضاد التخثر EDTA.

تحضير المحاليل منخفضة ومتساوية ومرتفعة التوتر الحلولي: يوضع في أنبوب سعة 15 مل مقدار 5 مل من أحد المحاليل الثلاثة:

- **المحلول A:** (0.45X PBS) للمحلول منخفض الضغط الحلولي.
- **المحلول B:** (1X PBS) للمحلول متساوي الضغط الحلولي.
- **المحلول C:** (10X PBS) للمحلول مرتفع الضغط الحلولي.

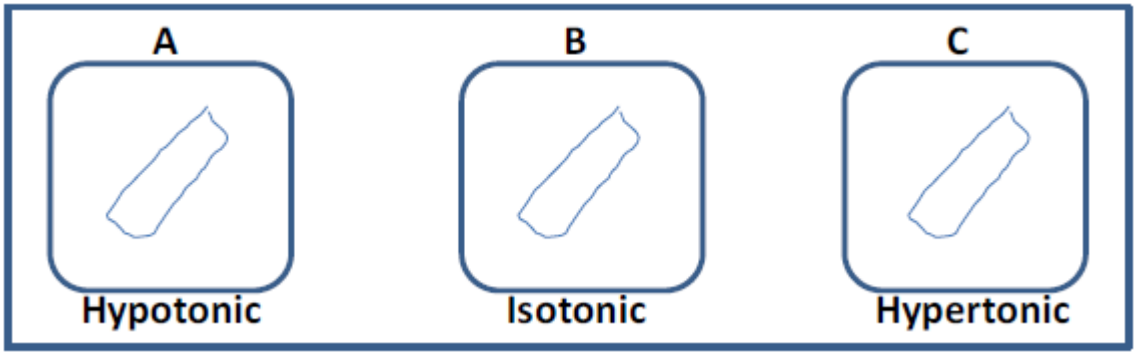
ملاحظة: بخصوص تجربة خلايا البصل، يضاف إلى كل من الأنابيب الثلاثة 2.5 مل (لكل 5 مل من المحاليل A أو B أو C) من محلول اليود اليودي وتُمزَج جيداً، أما بالنسبة لخلايا الدم فلا داعٍ لإضافة اليود اليودي.

أقسام الجلسة العملية

التجربة الأولى: التناضح في خلايا البصل

الهدف: مقارنة تأثير ثلاثة محاليل (منخفضة أو متساوية أو مرتفعة التوتر الحلولي) على الفجوات المركزية في خلايا القشرة الداخلية لنبات البصل.

طريقة العمل: تقسم ثلاثة قطع متماثلة (بالمشرط أو الشفرة) من القشرة الداخلية للبصل وتوضع القطع الثلاثة على نفس الصفيحة المجهرية كما في الشكل (8 – 2).



الشكل 8 – 2 توزيع مقاطع قشرة البصل على الصفيحة المجهرية.

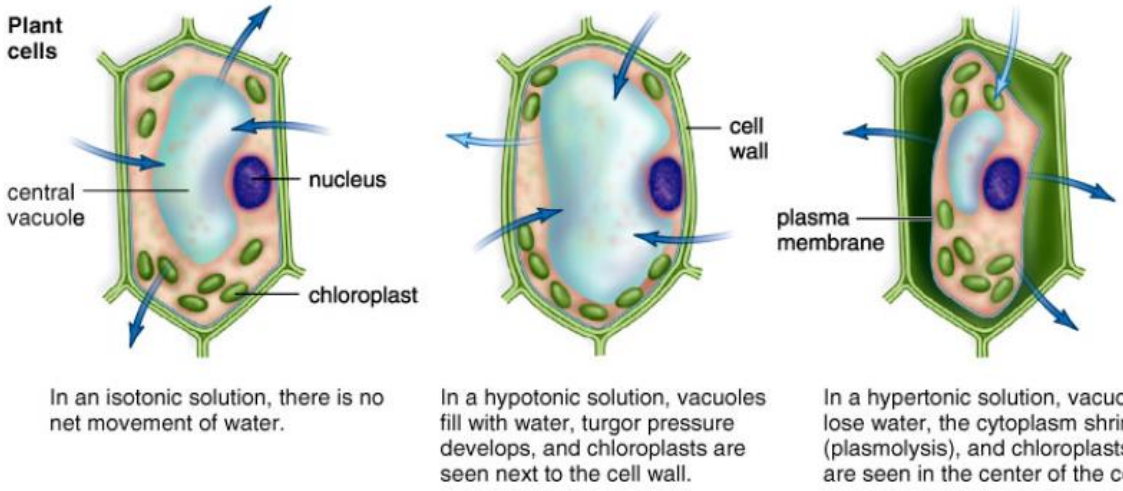
تُضاف إلى العينات قطرة من المحلول A أو B أو C (الحاوية على اليود اليودي)، وتغطى بساترة وتراقب التغيرات على خلايا قشرة البصل خلال 15 دقيقة بعد تحضير العينات وتسجل الملاحظات.

النتائج المتوقعة (الشكل 8 – 3)**:**

يؤدي المحلول A إلى انتباج خلايا البصل ويلاحظ ازدياد حجم العديد من خلايا البصل وانزياح نوى الخلايا إلى الأطراف في كثير منها.

لا يؤدي المحلول B إلى أي تغيير يذكر في شكل خلايا البصل النموذجي حيث الشكل المتطاول والمتجانس لخلايا البصل.

يؤدي المحلول C إلى انكماش الفجوة المركزية في خلايا البصل وتبدو العديد من الخلايا حاوية على فجوة أو أكثر، كما يمكن أن تجف الفجوات كلياً إذا تركت العينة لفترة أطول من ساعة كاملة.



الشكل 8 – 3 شكل تخطيطي يبيّن التغير الذي يطرأ على الخلايا والفجوات المركزية في خلايا النبات بعد غمسها في محاليل مختلفة التوتر الحلولي

تفسير النتائج:

يؤدي دخول الماء في الحلول A إلى الخلايا إلى انتباج بعض الخلايا وزيادة حجمها، بينما لا يؤدي المحلول B إلى أي تغير يذكر في شكل الخلايا المنتظم، في حين تؤدي إضافة المحلول C إلى انكماش واضح في الفجوات المركزية أو ما يسمى Plasmolysis.

التجربة الثانية: التناضح في كريات الدم الحمراء

الهدف: مراقبة تأثير الاختلاف في التوتر الحلولي للمحاليل على شكل الكريات الحمراء

طريقة العمل: تؤخذ قطرة واحدة من الدم الحاوي على EDTA كمضاد تخثر (بواسطة ممص باستور، تقريباً 50 ميكرولتر) إلى 1 مل من المحاليل A أو B أو C (دون إضافة اليود اليودي)

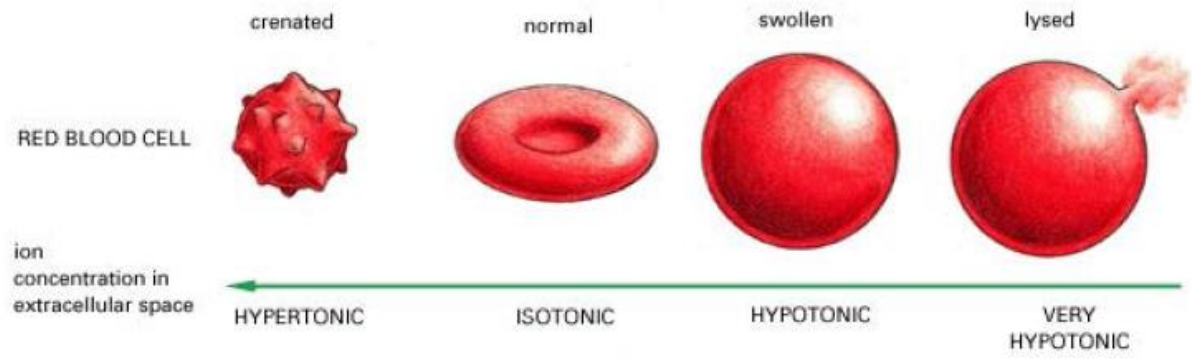
في أنبوب إبندورف وتمزج بقلب الأنبوب عدة مرات ثم تؤخذ قطرة واحدة من محضرات الدم الممدد الثلاثة وتوضع على صفيحة وتغطى بساترة وتراقب التغيرات التي تطرأ على شكل الكريات الحمراء خلال 10 دقائق بعد التمديد.

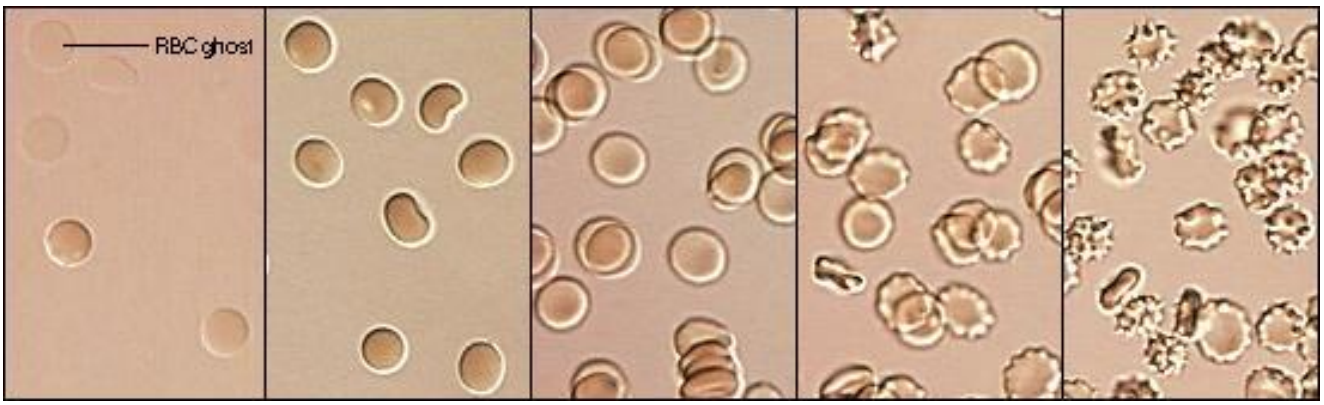
النتائج المتوقعة (الشكل 8 – 4):

يؤدي المحلول A إلى انتباج ومن ثم انفجار الكريات الحمر وتحولها إلى أشلاء Cell Debris.

لا يؤدي المحلول B إلى أي تغيير يذكر في شكل الكريات الحمر.

يؤدي المحلول C إلى انكماش الكريات الحمر وتغيّر في شكل أغشيتها وربما تجمّعها مع بعضها البعض.





الشكل 8 - 4 رسم تخطيطي يبيّن تأثر كريات الدم الحمر بمحاليل مختلفة التوتر الحلولي (أعلى)، وصورة مجهرية لشكل كريات الدم الحمراء خلال 10 دقائق من إضافة المحاليل مختلفة التوتر الحلولي (أسفل).

تفسير النتائج:

يؤدي دخول المحلول A إلى الكريات الحمر إلى انتباجها وتفجّرها في غضون أقل من دقيقة واحدة، بينما لا يؤدي المحلول B إلى أي تغيُّر في شكل الخلايا النموذجي، في حين يؤدي المحلول C إلى انكماش واضح في غشاء الكريات الحمر وإلى صغر حجمها.