



جامعة الأنبار

الكلية/ التربية للعلوم الصرفة

قسم او الفرع/ علوم الحياة

المرحلة / الاولى

أستاذ المادة : م.م براء حميد صالح

اسم المادة باللغة العربية : نبات عام

اسم المادة باللغة الإنكليزية : **General Plant**

اسم المحاضرة الأولى باللغة العربية : تحضير الشرائح المؤقتة

اسم المحاضرة الأولى باللغة الانكليزية : **Preparing temporary slides**

## محتوى المحاضرة الرابعة

تتضمن الدراسة العملية في موضوع النبات العام المشاهدات بالعين المجردة واستخدام العدسات المكبرة واستخدام المجهر (المكروكوب) في دراسة الاجزاء الدقيقة للنباتات الراقية وكذلك دراسة النباتات الوائنة ويتم تسجيل هذه المشاهدات برسوم تخطيطية لتوضيح الاجزاء الداخلية الدقيقة من النبات .

فيما يلي تحضير بعض الشرائح في المختبر للاوراق الرقيقة من البصل ثم فحصها باستعمال القوى الصغرى اولاً ثم القوى الكبرى باتباع الطرق التالية :

### **اولاً : تحضير الشرائح المؤقتة**

- 1- خذ شريحة زجاجية نظيفة وكذلك الحال مع غطاء الشريحة cover slip
- 2- ضع قطرة من الماء في وسط الشريحة الزجاجية ثم ضع الجسم المراد فحصه بالمجهر في تلك القطرة (ويجوز العكس ) ثم غطاء الشريحة بوضع مائل (٤٥°) بالقرب من القطرة ماسكا الغطاء باليد اليسرى ثم ضع ابرة الترشيح Needle تحت الجهة الثانية من الغطاء البعيدة عن الشريحة ، اخفض غطاء الشريحة تدريجياً وذلك بسحب الابرة الى ان يقع الغطاء فوق القطرة فيغطيها تفاقيداً في تجمع بعض الفقاعات الهوائية . يجب التخلص من الماء الزائد الذي يسيل مقدار منه خارج غطاء الشريحة وذلك بلاستعانة بورق النشاف اما اذا طفح جزء من الماء فوق غطاء الشريحة فيجب ابدال الغطاء واعادة العملية مجدداً او ابدال الغطاء وازالة الماء الزائد بواسطة ورق النشاف .
- 3- عندما يراد فحص مقاطع من الاعضاء النباتية المختلفة حيث كانت حية او محفوظة فتحضر المقاطع اما باليد بواسطة الموس او سكين حادة او شفرة حلقة او باستعمال الات خاصة تعرف بالمايكروتوم microtome التي توجد انواع مختلفة منها .  
وتعتبر الطريقة اليدوية من الطرق السهلة الشائعة في تحضير المقاطع للدراسة العلمية بالنسبة للطلبة بصورة خاصة وان كان من الصعوبة الحصول على مقاطع تقل عن ٢٠ مايكرون سمكا بهذه الطريقة
- 4- عندما يراد فحص العينة بعد تلوينها فتوجد انواع مختلفة من الصبغات تستخدم في الدراسة العملية ، تعطي كل منها لوناً خاصاً لجزء او اجزاء معينة من العينة حسب تركيبه الكيميائي نذكر منها :

#### **أ- محلول اليود Iodine**

يصبغ المواد النشوية باللون الازرق والبروتوبلازم باللون الاصفر

#### **ب- محلول اسد فوشين Acid fushine**

يصبغ اجزاء الخلايا والانسجة السليلوزية باللون الاخضر وتعمل كذلك في تصبغ المايكوتندريا .

#### **ج- الاخضر السريع Fast green**

هذه الصبغة ممتازة جدا في تصبغ السايكوبلازم والمواد السيلوزية وخيوط المغزل في الانقسام الخلوي

#### **د- سودان ٣ سودان ٤ sudan 1 sudan 4**

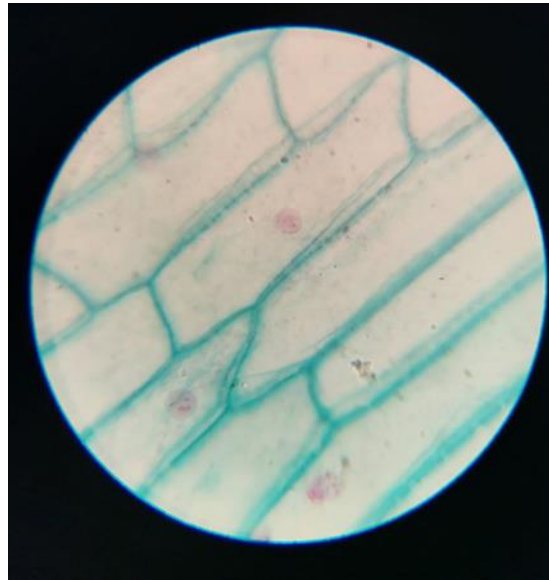
تستعمل هذه الصبغة بصورة واسعة في تصبغ المواد الشمعية والقنوات الراتنجية والحليب النباتي والجدران الخلوية السوبرية والملكنة وتعمل ايضاً في تصبغ البلاستيدات الخضراء

## هـ- السفرانين Safranin

وهي من الصبغات المهمة جدا والشائعة الاستعمال في تصبغ الانسجة النباتية حيث تصبغ جميع التراكيب الملكننة والسوبرية والكروموسومات والنواة والسنتروسوم .

### - وتتبع احدى الطريقتين التاليتين في تصبغ العينات النباتية عند تحضير الشرائح المؤقتة

- 1- توضع قطرة من الصبغة فوق الشريحة الزجاجية ويوضع فيها الجسم المراد فحصه ثم يوضع غطاء الشريحة حسب ماورد سابقاً
- 2- يوضع الجسم فوق قطرة من الماء ويغطي بغطاء الشريحة ثم توضع قطرة من الماء ويغطي بغطاء الشريحة ثم توضع قطرة من محلول الصبغة عند احدى جهات الغطاء ثم توضع قطعة صغية من ورق النشاف عند الجهة المقابلة للجهة التي وضع فيها القطرة ويكون وضع قطعة النشاف بحيث تلامس الماء للكائن تحت الغطاء وبهذا ينسحب الماء من تحت الغطاء وتحل محلة قطرة الصبغة .



شكل (١) خلايا بشرة اوراق البصل الحرشفية

### ثانياً : تحضير الشرائح الدائمة

لتحضير الشرائح الدائمة للعينات النباتية تتبع الخطوات التالية بعد الحصول على المقاطع باحدى الطرق التي اشير اليها في تحضير الشرائح المؤقتة

- 1- انقل المقاطع من على الة القطع الى طبق بتري او وعاء كوبلن coblin jar يحتوي على ماء مقطر ثم حضر شريحة مؤقتة لعدد منها كما سبق توضيح ذلك لانتقاء المقاطع الجيدة منها.
- 2- انقل المقاطع الجيدة الى طبق بتري او وعاء كوبلن اخر يحوي على كحول ايثيلي تركيزه 30% واتركها لمدة 15 دقيقة ثم الى كحول ايثيلي تركيزه 50% واتركها لمدة 15 دقيقة ايضاً
- 3- اصبغ المقاطع بأحدى الصبغات الانفة الذكر حسب هدف تحضير الشريحة وتستعمل في تصبغ المقاطع النباتية صبغة السفرانين واتركها لمدة 30-40 دقيقة ثم اغسل المقاطع ثلاث مرات باستعمال كحول ايثيلي تركيزه 50% لازالة الصبغة الزائدة.
- 4- انقل المقاطع بعد ذلك الى كحول تركيزه 70% ثم الى كحول تركيزه 80% ثم الى كحول تركيزه 90% واتركها في كل تركيز لمدة 15 دقيقة .

- ٥- اصبغ المقاطع بصبغة الاخضر السريع واتركها في الصبغة لمدة دقيقة واحدة.
- ٦- انقل المقاطع ثلاث مرات في كحول اثيلي مطلق ولمدة دقيقة واحدة في كل مرة وذلك لازالة الصبغة الزائدة ومواصلة عملية سحب الماء من المقاطع.
- ٧- انقل المقاطع بعد ذلك ثلاث مرات في زايول مطلق ولمدة دقيقة واحدة في كل مرة وذلك لاكمال عملية سحب الماء وتوضيح الصبغتين في المقاطع.
- ٨- ضع المقطع على الشريحة الزجاجية بواسطة فرشاة ثم ضع قطرة او قطرتين من مادة التحميل (بلم كندا canda balsam) ثم غلفها بغطاء الشريحة .
- ٩- اذا لوحظ تلويين القطع بلون حليبي او ضبابي بعد وضع غطاء الشريحة فيجب ارجاع المقطع الى المرحلة الاولى من الكحول المطلق لاتمام عملية سحب الماء والاستمرار في الخطوات اللاحقة .
- ١٠- توضع بعد ذلك الشرائح على صفيحة ساخنة hot plate بدرجة %40 ولمدة 24 ساعة لاتمام عملية تجانس توزيع مادة (بلم كندا) والتخلص من الفقاعات الهوائية ان وحدث .
- ١١- يتم بعد ذلك تنظيف الشريحة من الكمية الزائدة من (بلم كندا) باستعمال الزايول والفرشاة.
- ١٢- توضع علامة على الشريحة تتضمن كافة البيانات المطلوبة لتمييز تلك الشريحة .