

## مقدمة

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ ، والحمد لله رب العالمين ، والصلاة والسلام على أفضل الخلق أجمعين محمد الرسول الأمين ، خاتم الأنبياء ، وسيد المرسلين ، وعلى آله وصحبه والتابعين .

مع اكتشاف زخارياس جانسن Zacharias Jansen للمجهر الضوئي في عام ١٥٩٠ بدأ الإنسان رحلته في دراسة التركيب الدقيق للكائنات الحية ليعرف ما تضم من أنسجة مختلفة ، ولاشك أن أى تقدم في فهم التركيب الداخلى للكائنات الحية يقوم على ركيزتين أساسيتين ، تتمثل الركيزة الأولى في كيفية إعداد العينة المطلوب دراستها للفحص المجهرى ، والركيزة الثانية هي التقدم في صناعة البصريات وبالتالي المجهر المستخدم في الفحص .

تفتقر المكتبة العربية إلى مؤلفات تناول أى من هاتين الركيزتين ويهدف هذا الكتاب إلى تقديم جهد متواضع في هذا الشأن ليتنفع به كل دارس للنباتات يحاول إماطة اللثام عن التركيب التشريحي لها سواء كان باحثا في مجال علم تشريح الانسجة Histology أم علم الوراثة Genetics أم علم أمراض النبات Plant pathology أم علم الخلية Cytology أم علم الأجنة Embryology أم علم حيوب اللقاح Palynology .

يتناول هذا الكتاب بالشرح المبادئ العامة لكيفية تجهيز معمل للميكروتكنيك النباتي وما يتطلبه من أدوات وأجهزة وكيمائيات مختلفة كذلك الاحتياطات الواجبة وأسلوب العناية اللازمة للحصول على نتائج دقيقة - كما يتناول الكتاب أيضاً كيفية تحضير العينة منذ أخذها من النبات حتى تحضير الشريحة للفحص المجهرى وتحليل النتائج - ولم يغفل الكتاب أيضاً تقديم شرح مبسط لكل من المجهر الضوئي والمجهر الإلكتروني بنوعيه المتخلل والمساح حتى

يكون العرض شاملاً لمختلف الجوانب التي يتطلبها من ينشد دراسة التركيب الدقيق للنباتات .

نسأل الله العلى القدير أن يكون لهذا الجهد المتواضع فائدته المنشودة للمهتمين بعمل التحضيرات النباتية الدقيقة للفحص المجهرى ، وأن يكون حافزا لمزيد من الدراسة النباتية التى تضيف الجديد للعلم فى وطننا العربى .

المؤلفان

# المحتويات

الصفحة	الموضوع
٥	مقدمة
٧	المحتويات
١٥	تمهيد
	١- المبادئ العامة
١٩	- الأدوات والأجهزة الواجب توافرها فى المعمل
١٩	أولاً : أدوات التشريح
٢٠	ثانياً : الأدوات الزجاجية
٢١	ثالثاً : الأجهزة
٢٢	رابعاً : متنوعات
٢٣	- القواعد الواجب اتباعها فى المعمل
٢٤	- العناية بالأدوات الزجاجية
٢٥	- تحضير المحاليل المختلفة
٣٠	- جمع وتجزئة العينات النباتية
	٢- القتل والتثبيت
٣٦	- صفات المحاليل المستخدمة فى القتل والتثبيت
٣٧	- محاليل القتل والتثبيت
٤٣	- إجراء عملية القتل والتثبيت
٤٥	- تركيب المحاليل المستخدمة فى القتل والتثبيت
٥٢	- محاليل حفظ النماذج النباتية

## الصفحة

## الموضوع

## ٣ - التجفيف ( طرد الماء )

٥٧ - الترويق

## ٤ - الطمر ( الصب في القوالب )

٦١ - أولاً : الطمر في شمع البارافين

٦٢ - التشريب في شمع البارافين

٦٤ - الترقيد في شمع البارافين

٦٦ - ثانيًا : الطمر في السللويدن

٦٧ - ثالثًا : الطمر المزدوج في السللويدن وشمع البارافين

٦٧ - رابعًا : الطمر في أشباه شموع تذوب في الماء

## ٥ - الميكروتومات

٦٩ أولاً : الميكروتوم الدوار لقطاعات شمع البارافين

٦٩ - الإرشادات الأساسية للميكروتوم الدوار

٧٤ - مشكلات عملية القطع بالميكروتوم الدوار والحلول المقترحة

٧٥ ثانيًا : الميكروتوم المنزلق لقطاعات السللويدن

٧٧ - الإرشادات الأساسية للميكروتوم المنزلق

٧٨ - مشكلات عملية القطع بالميكروتوم المنزلق والحلول المقترحة

٧٩ ثالثًا : ميكروتومات القطاعات الثلجة ( المبردة )

٧٩ (أ) الميكروتوم الثلجي

٨٠ - الإرشادات الأساسية للميكروتوم الثلجي الاكينيكي

٨١ - مشكلات القطع بالميكروتوم الثلجي والحلول المقترحة

٨٢ (ب) ميكروتوم الكريوستات

٨٣ - الإرشادات الأساسية لميكروتوم الكريوستات

٨٤ - مشكلات القطع بميكروتوم الكريوستات والحلول المقترحة

## الصفحة

## الموضوع

- ٨٥ رابعاً : الميكروتوم الفائق لقطاعات المجهر الإلكتروني  
٨٨ - سكين الميكروتوم

## ٦ - قطع العينات

- ٩٠ - قطع العينات النباتية المطمورة فى شمع البارافين  
٩٠ - تجهيز القوالب للقطع بالميكروتوم  
٩١ - العوامل التى تؤثر على عملية القطع  
٩٤ - قطع العينات النباتية غير المطمورة فى شمع البارافين  
٩٤ - أولاً : القطاعات اليدوية  
٩٥ - ثانياً : القطع بواسطة الميكروتوم  
٩٥ (أ) القطع بواسطة الميكروتوم الثلجى  
٩٦ (ب) القطع بواسطة الميكروتوم المنزلق  
٩٧ - قطع العينات النباتية المطمورة فى السللويدن

## ٧ - لصق القطاعات على الشرائح

- ٩٩ - خطوات العمل  
١٠١ - إزالة الشمع  
١٠١ - لصق القطاعات التى تعمل باليد أو بالميكروتوم الثلجى أو المنزلق

## ٨ - الصبغ

- ١٠٥ - أولاً : الصبغات الطبيعية  
١٠٧ - ثانياً : الصبغات الصناعية  
١٠٨ - الاستعمالات النباتية الأساسية للصبغات الشائعة  
١١١ - أولاً : الصبغة المفردة  
١١٦ - ثانياً : الصبغ المزدوج

## الصفحة

## الموضوع

- ٩ - التخميل والتغطية
- ١٢٦ - خطوات إجراء التخميل والتغطية
- ١٠ - دراسات تشريحية خاصة
- ١٢٧ أولاً : تفكيك نسيج الخشب
- ١٢٨ ثانياً : دهك الأنسجة ( طريقة الأستوكارمين )
- ١٣١ ثالثاً : الدراسة التشريحية للعقدة وعنق الورقة بواسطة القطاعات اليدوية
- ١٣٣ رابعاً : الطرق المتبعة لدراسة تشريح الورقة والزهرة
- ١٣٣ (أ) إزالة اللون
- ١٣٤ (ب) سلخ البشرة
- ١٣٦ خامساً : بعض الطرق المستعملة لتجهيز العينات التشريحية لأمراض النبات
- ١٣٦ (١) الفطريات البيضية
- ١٣٨ - برشمة التحضير
- ١٣٨ (أ) طريقة التطويق
- ١٣٩ (ب) طريقة ديهل
- ١٤٠ - الصبغ المستديم
- ١٤٢ - قطاعات البارافين
- ١٤٢ (٢) الفطريات الزيجية ( اللاقحية )
- ١٤٤ (٣) الفطريات الاسكية ( الزقية )
- ١٤٦ (٤) الفطريات البازيدية ( الهراوية )
- ١٤٦ (أ) أمراض التفحم
- ١٤٦ (ب) الاصداء
- ١٤٨ (٥) الفطريات الناقصة

## الصفحة

## الموضوع

١٥١	١١ - الجهر
١٥١	أساسيات الفحص المجهرى
١٥١	- البصريات
١٥١	- بصريات المجهر الضوئى
١٥٥	- خصائص العدسات الشيئية
١٥٥	(١) التكبير
١٥٥	(٢) مسافة الشغل
١٥٥	(٣) البعد البؤرى
١٥٦	(٤) عمق الرؤيا
١٥٦	(٥) قوة التمييز
١٥٧	(٦) التوافق
١٥٧	(٧) أنواع الشثيات
١٥٧	- خصائص العدسات العينية
١٥٩	- الإضاءة
١٦٠	- التكبير
١٦١	- أنواع المجاهر
١٦١	أولاً : المجهر البسيط
١٦٣	ثانياً : المجهر المركب ( الضوئى )
١٦٣	- تركيب المجهر الضوئى
١٦٥	- استعمال المجهر الضوئى
١٦٨	- ملحقات المجهر

## الصفحة

## الموضوع

- ١٦٨ (١) الميكروميتر
- ١٦٨ (ا) القطعة العينية للميكروميتر
- ١٦٩ (ب) الشريحة الميكرومترية
- ١٦٩ (٢) كاميرا لومبيدا
- ١٧٠ - فحص الشرائح بالمجهر
- ١٧٧ ثالثاً : المجهر الإلكتروني
- ١٨٠ - المجهر الإلكتروني المتخلل
- ١٨٧ - مشاهدة وتسجيل الصورة
- ١٨٩ - المشاهدة من خلال شاشة تلفزيون
- ١٨٩ - التفريغ
- ١٨٩ - الإلكترونيات
- ١٩٠ - توجيه والتعامل مع العينة
- ١٩٠ - استخدام المجهر الإلكتروني المتخلل وإعداد العينة
- ١٩١ - المجهر الإلكتروني المساح
- ١٩٤ - مدفع الإلكترونيات
- ١٩٥ - الكشف عن الإلكترونيات
- ١٩٥ - التكبير والإظهار
- ١٩٦ - مشاهدة وتسجيل الصورة
- ١٩٦ - معاملة الصورة
- ١٩٦ - التفريغ
- ١٩٧ - الإلكترونيات
- ١٩٧ - توجيه والتعامل مع العينة

## الصفحة

## الموضوع

- ١٩٧ - استخدام المجهر الإلكتروني المساح وإعداد العينة
- ١٩٩ - الفحص المجهرى الإلكتروني المساح المتخلل
- ١٩٩ - تجهيز العينات
- ٢٠٠ - الحصول على العينات
- ٢٠٠ - التثبيت
- ٢٠١ - المحاليل المثبتة
- ٢٠٥ - إجراء عملية التثبيت
- ٢٠٥ - التجفيف والتشرب
- ٢٠٥ - المواد المستخدمة
- ٢٠٧ - صبغ قوالب العينات والقطاعات الثلجية
- ٢٠٧ - فحص الخلية بالمجهر الإلكتروني
- ٢٠٧ - الغشاء الخلوى
- ٢٠٧ - النواة
- ٢٠٨ - الشبكة الاندوبلازمية
- ٢٠٨ - أجسام جولجى
- ٢٠٨ - الميتوكوندريا
- ٢١٣ رابعاً : أنواع المجهر الحديثة

## المراجع

أولاً : المراجع العربية

ثانياً : المراجع الأجنبية

ثالثاً : كتالوجات



## تهديد

تشكل الدراسة العملية للعلوم البيولوجية عامة وعلم النبات خاصة القاعدة الأساسية لهذه العلوم لما توفره للدارس من خبرات مباشرة ، وصورة شاملة واعية للعينة موضع الفحص يرتبط فيها الجزء بالكل ويتضح من خلالها التناسق والتنسيق بين هذه الأجزاء لتكون كلاً متكاملًا ، وهو ما لا يمكن - أو قد يصعب - تخيله ذهنيًا بدون الفحص العملي الدقيق ، ومن هنا كانت أهمية الدراسة العملية .

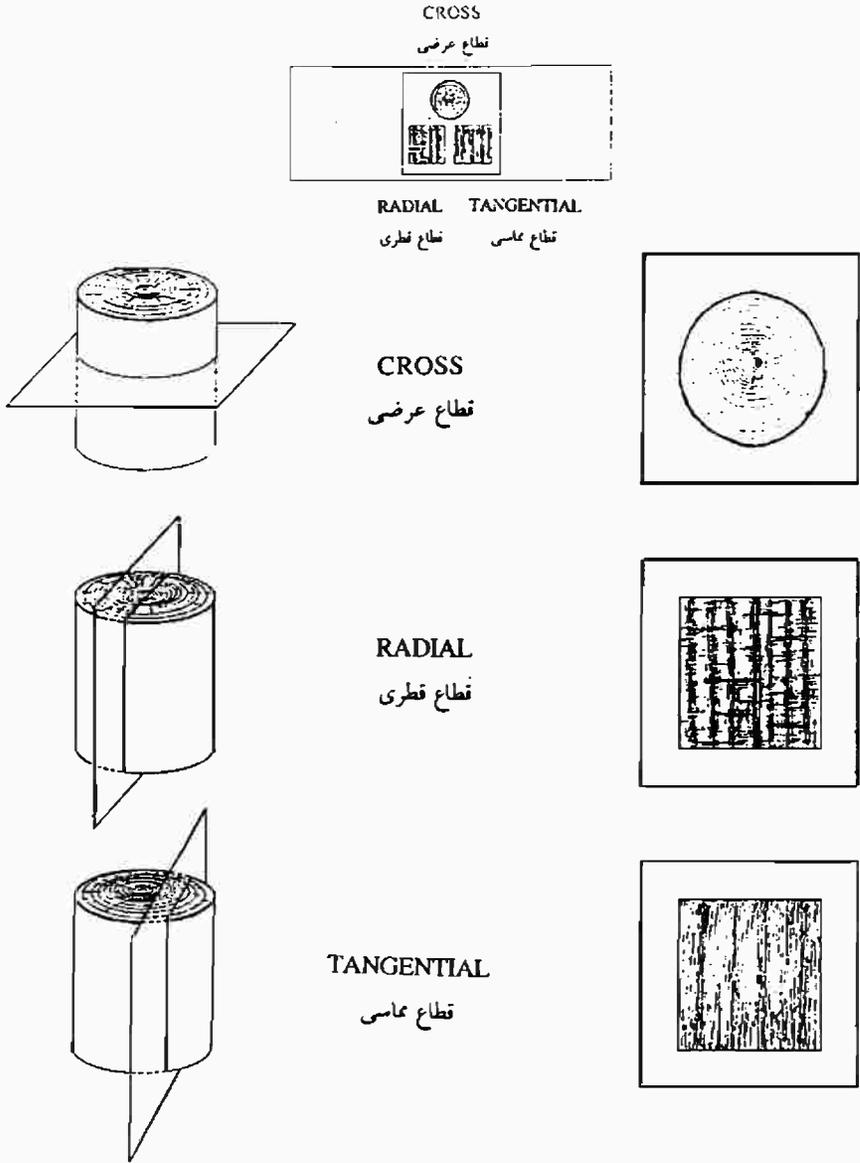
ومن الدراسات العملية التي على درجة عظيمة من الأهمية دراسة الميكروتكنيك النباتي ، ويقصد بها تحضير الشرائح سواء كانت مؤقتة أم مستديمة والتي تهيم للباحث القدرة على فحص التركيب الداخلي للأعضاء النباتية المختلفة مما يتيح له فرصة تعرف تركيب النبات ، وما قد يكون لذلك من أهمية في تفسير عديد من الظواهر العلمية المختلفة . وقد ساهمت هذه الدراسة في تطور وتقدم الكثير من العلوم النباتية مثل : علم التشريح Anatomy - وعلم الخلية Cytology - وعلم الأنسجة Histology - وعلم حبوب اللقاح Palynology - وعلم الأجنة Embryology - وعلم التقسيم Taxonomy - وعلم الأمراض Pathology - وعلم الوراثة Genetics - وعلم الفسيولوجى Physiology - وعلم التربية Breeding - وعلم زاعة الأنسجة Tissue - culture .

تعتبر دراسة الميكروتكنيك النباتي أمرا يسيرا من الوجهة النظرية وإن كانت من الوجهة العملية تحتاج إلى صبر وممارسة طويلة حتى يمكن للمرء إتقانها واكتساب الخبرة التي تمكنه من الحصول على أفضل النتائج المرجوة عند تحضير الشرائح . ويعقب تحضير الشرائح قراءتها ثم رسمها أو تصويرها ، إذ إن تحضير الشرائح لايعتبر هدفًا في حد ذاته ، وتتوقف طريقة تحضير الشرائح على الهدف الذى من أجله تجرى عملية التحضير والمجال العلمى الذى سوف تستخدم فيه هذه الشرائح . فقد يكون التحضير لمجرد دراسة أولية تلقى الضوء على مايلها من تحضيرات لشرائح مستديمة ، حيث يقوم الباحث أولاً بعمل تحضيرات مؤقتة ثم من قراءتها يحدد الأجزاء التي يرى أن لها أهمية في دراسته .

قد يتطلب الأمر تحضير شرائح مستديمة لقطاعات سلسلة Serial sections كما هو الحال عند دراسة القمم النامية وعند دراسة سلوك الحزم الوعائية سواء في الأعضاء الخضرية أو الزهرية . ويجب عند دراسة القمم النامية أو البراعم عدم تغيير السمك الذى يتم القطع عليه مع المحافظة على نظام تسلسل القطاعات على كل شريحة وكذلك ترتيب الشرائح المتعاقبة حتى يتسنى تحديد البعد الذى يبدأ عنده تكشف كل ورقة والبراعم الموجودة فى آباط الأوراق وعددها وكذلك البعد الذى يتم عنده تكشف نسيج الخشب ونسيج اللحاء وبداية تكشف الفجوات فى الخلايا إلى غير ذلك من الدراسات التشريحية . ويتم تحديد هذه الأبعاد من خلال تقدير سمك وعدد القطاعات ، لذلك يلزم عدم إهمال أى من القطاعات ونظام تسلسلها أو تغيير سمك القطع .

يتطلب الأمر عند تحضير شرائح للدراسات المرضية أن يكون القطع فى موضع الإصابة وإلى أعلاها وأسفلها ، ولايلزم فى هذه الحالة تحضير قطاعات سلسلة ، ويجب أن تبدأ الدراسة من بداية العدوى الصناعية وعلى مراحل حتى المرحلة الأخيرة من تقدم المرض .

تجهز القطاعات بالقطع فى اتجاهات مختلفة ( شكل ١ ) فقد تكون عرضيا Transverse أو طوليا Longitudinal أو مماسيا Tangential أو مائلا Oblique أو قطريا Radial وقد يحتاج الأمر إلى عمل سلخ فى البشرة Epidermal peel أو كشط Scrape . وعند دراسة أشكال الخلايا ودراسة النقر تجرى عملية تفكيك Maceration للأنسجة لتحديد الشكل المنظور للجسم للخلايا ، أما عند دراسة مسار الحزم الوعائية فى الأجزاء الرقيقة كالأوراق والسبلات والبتلات والسوق الجوفاء فيمكن إزالة الكلوروفيل بمعاملة هذه الأجزاء النباتية كيميائيا لترويقها أى لجعلها شفافة Clearing ثم بعد ذلك تجرى الدراسة المطلوبة . ويجرى عد الكروموسومات فى الدراسة الوراثية والسيولوجية بعمل دهك Smearing للأنسجة خاصة المرستيمية ( القمم النامية ) وكذلك المتوك وتستخدم صبغة الاستوكارمين حتى يتسنى تحديد عدد الكروموسومات .



Placement of twig sections

شكل (١) : الاتجاهات المختلفة لتقطيع عينة من ساق النبات .

( ريلي Willey ١٩٧١ )