مقدمة

بسم الله الرحمن الرحيم ، 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 الضوئى فى عام ١٥٩٠ بدأ الإنسان رحلته فى دراسة التركيب الدقيق للكائنات الحية ليعرف ما تضم من أنسجة مختلفة ، ولاشك أن أى تقدم فى فهم التركيب الداخلى للكائنات الحية يقوم على ركيزتين أساسيتين ، تتمثل الركيزة الأولى فى كيفية إعداد العينة المطلوب دراستها للفحص المجهرى ، والركيزة الثانية هى التقدم فى صناعة البصريات وبالتالى المجهر المستخدم فى الفحص .

تفتقر المكتبة العربية إلى مؤلفات تتناول أى من هاتين الركيزتين ويهدف هذا الكتاب إلى تقديم جهد متواضع فى هذا الشأن لينتفع به كل دارس للنباتات يحاول إماطة اللثام عن التركيب التشريحى لها سواء كان باحثا فى مجال علم تشريح الأنسجة Histology أم علم الوراثة Genetics أم علم أمراض النبات Plant pathology أم علم الخلية Cytology أم علم الأجنه Embryology أم علم حبوب اللقاح Palynology .

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

يكون العرض شاملاً لمختلف الجوانب التى 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

obeikandl.com

المحتويـات

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

obeikandl.com

الموضـــوع	الصفحة

٣ - التجفيف (طرد الماء)

- الترويق ٥٧

٤ - الطمر (الصب فى القوالب)

- أولاً : الطمر فى شمع البارافين ٦١
- التشريب فى شمع البارافين ٦٢
- الترقيد فى شمع البارافين ٦٤
- ثانيًا : الطمر فى السللويدن ٦٦
- ثالثًا : الطمر المزدوج فى السللويدن وشمع البارافين ٦٧
- رابعًا : الطمر فى أشباه شموع تذوب فى الماء ٦٧

٥ - الميكروتومات

أولاً : الميكروتوم الدوار لقطاعات شمع البارافين ٦٩
- الإرشادات الأساسية للميكروتوم الدوار ٦٩
- مشكلات عملية القطع بالميكروتوم الدوار والحلول المقترحة ٧٤

ثانيًا : الميكروتوم المنزلق لقطاعات السللويدن ٧٥
- الإرشادات الأساسية للميكروتوم المنزلق ٧٧
- مشكلات عملية القطع بالميكروتوم المنزلق والحلول المقترحة ٧٨

ثالثًا : ميكروتومات القطاعات المثلجة (المبردة) ٧٩

(أ) الميكروتوم الثلجى ٧٩
- الإرشادات الأساسية للميكروتوم الثلجى الاكلينيكى ٨٠
- مشكلات القطع بالميكروتوم الثلجى والحلول المقترحة ٨١

(ب) ميكروتوم الكريوستات ٨٢
- الإرشادات الأساسية لميكروتوم الكريوستات ٨٣
- مشكلات القطع بميكروتوم الكريوستات والحلول المقترحة ٨٤

obeikandl.com

الموضـــوع	الصفحة

رابعًا : الميكروتوم الفائق لقطاعات المجهر الإلكترونى ٨٥

- سكين الميكروتوم ٨٨

٦ - قطع العينات

- قطع العينات النباتية المطمورة فى شمع البارافين ٩٠
- تجهيز القوالب للقطع بالميكروتوم ٩٠
- العوامل التى تؤثر على عملية القطع ٩١
- قطع العينات النباتية غير المطمورة فى شمع البارافين ٩٤
- أولاً : القطاعات اليدوية ٩٤
- ثانيًا : القطع بواسطة الميكروتوم ٩٥

(أ) القطع بواسطة الميكروتوم الثلجى ٩٥

(ب) القطع بواسطة الميكروتوم المنزلق ٩٦

- قطع العينات النباتية المطمورة فى السللويدن ٩٧

٧ - لصق القطاعات على الشرائح

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

٨ - الصبغ

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

obeikandi.com

الموضـــوع	الصفحة

٩ - التحميل والتغطية

- خطوات إجراء التحميل والتغطية ١٢٦

١٠ - دراسات تشريحية خاصة

أولاً : تفكيك نسيج الخشب ١٢٧

ثانيًا : دهك الأنسجة (طريقة الأسيتوكارمين) ١٢٨

ثالثًا : الدراسة التشريحية للعقدة وعنق الورقة بواسطة القطاعات اليدوية ١٣١

رابعًا : الطرق المتبعة لدراسة تشريح الورقة والزهرة ١٣٣

(أ) إزالة اللون ١٣٣

(ب) سلخ البشرة ١٣٤

خامسًا : بعض الطرق المستعملة لتجهيز العينات التشريحية لأمراض النبات ١٣٦

(١) الفطريات البيضية ١٣٦

- برشمة التحضير ١٣٨

(أ) طريقة التطويق ١٣٨

(ب) طريقة ديهل ١٣٩

- الصبغ المستديم ١٤٠

- قطاعات البارافين ١٤٢

(٢) الفطريات الزيجية (اللاقحية) ١٤٢

(٣) الفطريات الاسكية (الزقية) ١٤٤

(٤) الفطريات البازيدية (الهراوية) ١٤٦

(أ) أمراض التفحم ١٤٦

(ب) الاصداء ١٤٦

(٥) الفطريات الناقصة ١٤٨

obeikandl.com

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

obeikandi.com

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

obeikandl.com

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

المراجـــع

أولاً : المراجع العربية

ثانيًا : المراجع الأجنبية

ثالثًا : كتالوجات

obeikandl.com

obeikandl.com

تمهيد

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 متكاملاً ، وهو ما لايمكن - أو قد يصعب - تخيله ذهنيا بدون الفحص العملى الدقيق ، ومن هنا كانت أهمية الدراسة العملية .

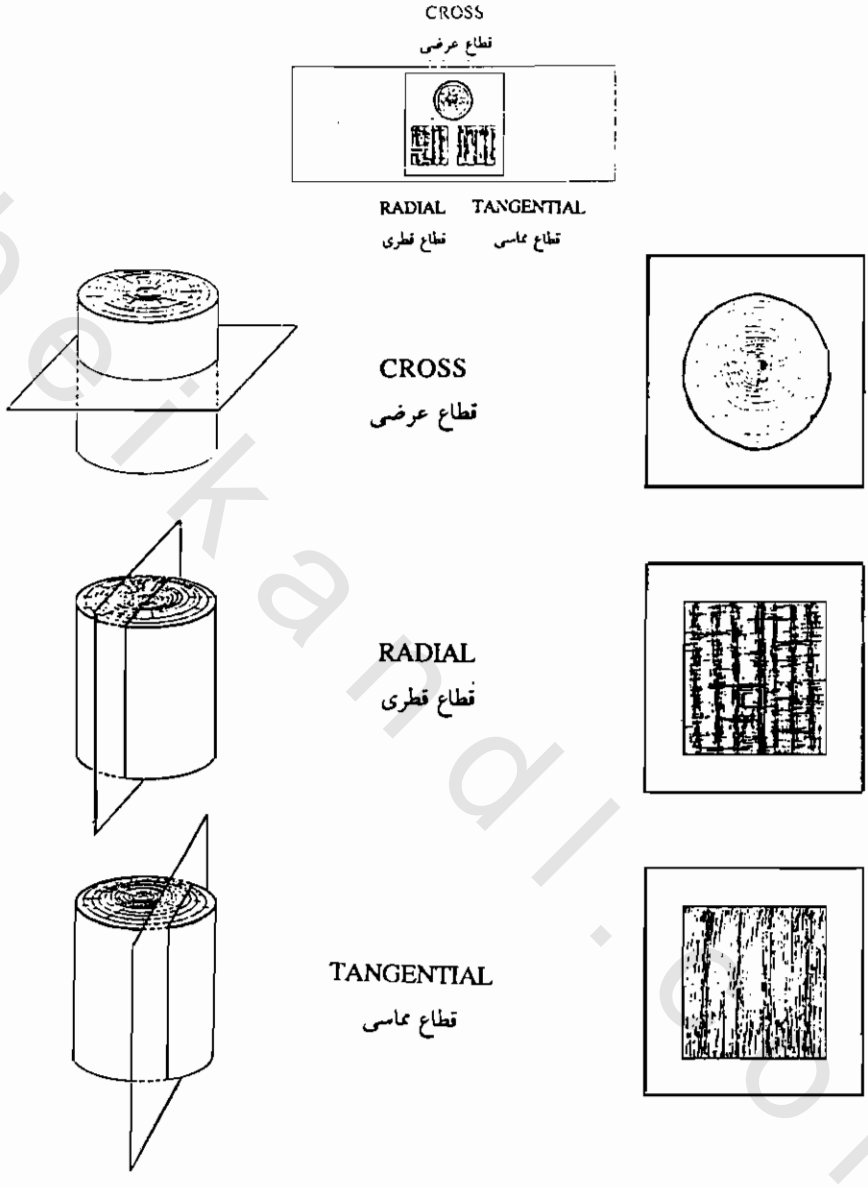
ومن الدراسات العملية التى على درجة عظيمة من الأهمية دراسة الميكروتكنيك النباتى ، ويقصد بها تحضير الشرائح سواء كانت مؤقتة أم مستديمة والتى تهيىء للباحث القدرة على فحص التركيب الداخلى للأعضاء النباتية المختلفة مما يتيح له فرصة تعرف تركيب النبات ، وما قد يكون لذلك من أهمية فى تفسير عديد من الظواهر العلمية المختلفة . وقد ساهمت هذه الدراسة فى 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 النباتى أمرا يسيرا من الوجهة النظرية وإن كانت من الوجهة العملية تحتاج إلى صبر وممارسة طويلة حتى يمكن للمرء إتقانها واكتساب الخبرة التى تمكنه من الحصول على أفضل النتائج المرجوة عند تحضير الشرائح . ويعقب تحضير الشرائح قراءتها ثم رسمها أو تصويرها ، إذ إن تحضير الشرائح لايعتبر هدفًا فى 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 مايليها من تحضيرات لشرائح مستديمة ، حيث يقوم الباحث أولاً بعمل تحضيرات مؤقتة ثم من قراءتها يحدد الأجزاء التى يرى أن لها أهمية فى دراسته .

قد يتطلب الأمر تحضير شرائح مستديمة لقطاعات مسلسلة Serial sections كما هو الحال عند دراسة القمم النامية وعند دراسة سلوك الحزم الوعائية سواء فى 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 مسلسلة ، 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 او 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 المجسم 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 والسيتولوجية بعمل دهك Smearing للأنسجة خاصة المرستيمية (القمم النامية) وكذلك المتوك وتستخدم صبغة الاسيتوكارمين حتى يتسنى تحديد عدد الكروموسومات .



Placement of twig sections

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

(ويلى Willey ١٩٧١)

obeikandl.com