



دراسات عليا



جامعة بنها  
كلية الزراعة

قسم النبات الزراعى  
فرع: النبات الزراعى

نموذج إجابة استرشادى لمادة: **ميكرو تكتيك نبات (٨٦٠٢)**

الزمن : ساعتان  
الدرجة الكلية : ٦٠ درجة

الفصل الدراسى الأول - العام الجامعى ٢٠١٨/٢٠١٩  
(لائحة قديمة)

يجيب الطالب عن **ثلاثة أسئلة فقط** مما يأتى بشرط أن تتضمن **السؤال الثالث**:-

**السؤال الأول:- أجب عن نقطتان فقط مما يأتى:- (اختيارى)**

٢٠ درجة

١) عرّف علم الميكرو تكتيك - ثم تكلم على كيفية أخذ العينات النباتية لدراسة تركيبها الداخلى مع ذكر أنواع التحضيرات المختلفة؟.....

١٠ درجات

**الإجابة**

هو العلم الذى يختص بتعليم الطالب الأساليب الصحيحة لإعداد العينات النباتية و فحصها مجهرياً و حفظها بالطرق المناسبة وعلى أساس علمى سليم.

**كيفية أخذ العينات النباتية لدراسة تركيبها الداخلى**

وتؤخذ العينات النباتية من النبات وتوضع مباشرة فى محلول القتل و التثبيت للحفاظ على صورتها الطبيعية قبل القتل. ويراعى فى ذلك ١- أن تكون العينات نظيفة.

٢- تقطيع العينات فى حدود ٤ مم من الجذر و الساق و الأوراق.

٣- أن تستخدم زجاجات مناسبة للعينات.

٤- أن يغطى المحلول العينات و يزيد عليها بالضعف.

٥- العينات الكبيرة يراعى تقسيمها و زيادة كمية المحلول.

٦- يراعى غسل العينات بعد مدة القتل و التثبيت المناسبة ولو زادت المدة يراعى وضع كمية أخرى من المحلول الذى تطاير.

٧- ألا تزيد مدة القتل عن المدة المناسبة لكل عينة.

**أنواع التحضيرات / ١- مؤقتة مثل السلخ و الكشط و هرس و قطاعات عرضية.**

٢- نصف مستديمة.

٣- مستديمة.

\*\*\*\*\*

٢) أذكر الخطوات المتتالية لإعداد شريحة نباتية باستخدام طريقة شمع البرافين - ثم تكلم عن إحداها من حيث تعريفها - المواد و الأدوات المستخدمة بها- ما يجب مراعاته عند إجرائها؟.....

١٠ درجات

**الإجابة**

١- تجميع العينات النباتية.  
العينات.

٢- عملية القتل و التثبيت للعينات.

٣-مرحلة غسل

٤- تجفيف العينات.  
العينات.

٥-الترويق.

٧-تقطيع

٨-صبغ الشرائح.  
قياسها.

٩-تحميل العينات بالكندا بلسم.

١٠-فحص العينات و

ثم يذكر الطالب تعريفها و أفضل المواد و الأدوات المستخدمة و ما يجب مراعاته فى خطوة واحدة فقط منها كما جاء فى المحاضرات النظرية و على سبيل المثال لأحد الخطوات:-

**صبغ الشرائح/** نظرا لتعدد أنواع الصبغات فإن اختيار نوع الصبغة ، و طريقة الصبغ يتوقف على الغرض من الدراسة والمكون الخلوي المراد تلوينه ليسهل التعرف عليه، حيث يتوقف على ذلك معرفة الطريقة الصحيحة لتجهيز الصبغة وكذلك الطريقة المثلى التى يمكن استخدامها فى صبغ (مفرد، مزدوج... الخ). ولكي تتم عملية الصبغ بنجاح ويتم الحصول على قطاعات مصبوغة بطريقة جيدة لتحقيق الهدف المنشود من عملية الصبغ يلزم أخذ بعض الاحتياطات.

**أهم الاحتياطات التى يجب مراعاتها عند اختيار الصبغة:**

- أ - قدرة الصبغة على الارتباط بالمكونات الخلوية التي تتميز بها الخلية.
- ب - أن يتم احتفاظ الجزء المصبوغ باللون المميز للصبغة أثناء العمليات التالية لعملية الصبغ (من مواد الترويق والتحميل).
- ج - ثبات اللون لفترات طويلة حتى يمكننا الرجوع إلى القطاعات وفحصها مع مرور الزمن.
- ويتوقف اختيار بعض أنواع الصبغات وطريقة الصبغ على نوع المثبت المستخدم في تثبيت العينة مسبقاً.
- أهم الاحتياطات الواجب مراعاتها أثناء عملية الصبغ:
- 1 - أن يتم تجهيز الصبغات بالطريقة السليمة وبالتركيز المطلوب.
  - 2 - أن يتم تحديد طريقة الصبغ (مفرد ، مزدوج ، ..... الخ) حسب ما سبق ذكره .
  - 3 - أن تكون أواني الصبغ المستخدمة نظيفة.
  - 4 - يجب تكتب البيانات بوضوح على أواني الصبغ المستخدمة.
  - 5 - أن يتم إحكام غلق أواني الصبغ وخاصة الموجود بها مذيبات.
  - 6 - أن يتم تغيير الكحول المطلق و المذيب كل فترة.

### الخطوات الرئيسية لإجراء عملية الصبغ :

- أ - إعداد القطاعات للصبغ
- ب - اختيار طريقة الصبغ
- مثال لتسلسل احواض الصبغ المفرد و المزدوج



\*\*\*\*\*

٣) بماذا تفسر: ١- يفضل استخدام الميكروتوم الثلجي عند تحضير و تقطيع بعض العينات؟ ..... ١٠ درجات حيث يستخدم في حالة العينات الطبية السريعة و العينات النباتية التي لا تتحمل درجات الحرارة العالية في طريقة شمع البارافين.

\*\*\*\*\*

٢- سقوط شرائط العينات في أول أحواض الصبغ المحتوية على الزيتول؟

وذلك نتيجة استخدام لاصق غير جيد او استخدام شرائط الجيلاتين بدلا من مسحوق الجيلاتين الناعم عند تحضير لاصق هوبت.

\*\*\*\*\*

٢٠ درجة

### السؤال الثاني:- أجب عن ما يأتي:- (اختياري)

١) من الخطوات المؤثرة و الهامة في إعداد الشرائح المستديمة للفحص المجهرى خطوة القتل و التثبيت لذا أجب عن النقاط التالية:-

#### الإجابة

أ) عرّف القتل و التثبيت ثم اذكر ما هي شروط المثبت الجيد؟ ..... ٤ درجات  
هو استخدام محلول يتركب من بضعة مواد كيميائية في عملية قتل و تثبيت العينات. وبذلك يتم المحافظة على مكونات النسيج أو الخلية بحالة مشابهة ، قدر الإمكان.

#### -شروط المثبت الجيد:

١-سرعة نفاذة خلال النسيج حتى تتمكن من وقف العمليات الحيوية بأسرع وقت ممكن..

- ٢-قلة تأثيره الفيزيائي والكيميائي علي مكونات النسيج حتى لأتسبب له اي انكماش وتلف.
- ٣- عدم تغير تركيبة بمرور الوقت.
- ٤- سهولة استعماله.
- ٥- اعتدال سعره وخاصة بعد ارتفاع أسعار المواد الكيميائية ،حيث يعتبر السعر من العوامل المحددة لاختيار المثبت.
- ٦-لايوثر في قابلية الأنسجة للصبغ بل يجب أن تساعد على قبول الصبغة.
- ٧-يجلط محتويات البروتوبلازم ويجعله في حالة ناعمة Smooth.
- ٨-يكسب البروتوبلازم صلابة لتحمل العمليات المتتابعة حتى عملية الطمر.
- ٩-يقلل من ظهور الأشكال الغير حقيقية **artifacts**إثناء عملية الفحص المجهرى) تظهر هذه الإشكال نتيجة ارتباط بعض المواد المستخدمة بمكونات الخلية.

\*\*\*\*\*

**(ب) بماذا تفسر: ١-عادة ما تستخدم المثبتات في شكل مخاليط ولا تستخدم كمثبتات منفصلة؟.....٤ درجات**  
لايمكن لمحلول واحد أن يتضمن جميع المميزات السابقة ، ولذلك يتم تحضير محاليل التثبيت بخلط محلولين او اكثر فمثلا الكحول يقتل الخلايا وينتشر داخل الأنسجة بسرعة ولكنة يسبب انكماش السيتوبلازم ،أما حمض ألكليك الثلجي يمنع هذا الانكماش ، أما ثنائي كرومات البوتاسيوم فإنها تسبب انكماشاً للعينات ولذلك يستعمل معه الفورمالدهيد الذي يقلل من هذا الضرر حيث يعمل على انتفاخ العينة، أما حمض رابع أكسيد الاميوم يحافظ على التراكيب الخلوية ولكنة لا يحافظ على النواة لذلك إن اختيار خليط مواد القتل والتثبيت بغرض المحافظة على الشكل الخارجي والمكونات الداخلية وكذلك التركيب النووي للعينة عملية هامة.

\*\*\*\*\*

**٢-ظهور بقع سوداء عند فحص العينات النباتية بعد الصبغ؟.....٤ درجات**  
يرجع هذا عادة الى زيادة مدة بقاء العينات في محاليل القتل و التثبيت عن المدة المناسبة لهذه الانسجة فيما يعرف بال-Over fixation.

\*\*\*\*\*

**(ج) أذكر أهم نوع من محاليل المثبتات المستخدمة مع العينات المختلفة و كيفية تحضيره؟.....٤ درجات**

محلول الفورمالين- الحامض -الكحول FAA يتكون من:

كحول إيثيل ٥٠ أو ٧٠	٩٠ سم ٣
حامض خليك ثلجي	٥ سم ٣
فورمالدهيد (٣٧%)	٥ سم ٣

هو مثبت شائع الاستعمال للنماذج النباتية وتستغرق مدة التثبيت حوالي ١٨ ساعة. يمكن تغيير كمية كل من حامض الخليك الفورمالين، وذلك تبعاً لنوع العينة المراد دراستها. في حالة دراسة الأنسجة الخشبية **Woody tissues** تستخدم كميات أقل من حامض الخليك وكميات أكبر من الفورمالين مثل ، محلول بليس، وذلك لكون الفورمالين بطئ الدخول في مثل هذه الأنسجة ويستعمل محلول FAA للنماذج لفترات طويلة دون أن يلحق أي ضرر بالنسيج. يفضل استخدام كحول **Preservative** كحافظ ٥٠ % في حالة النماذج الرهيفة، وكحول ٧٠ % في حالة النماذج الأكثر صلابة مثل السيقان والجذور.

\*\*\*\*\*

**(٢) بماذا تفسر: ١-استخدام محلول اليود للكشف عن حيوية حبوب اللقاح؟.....٤ درجات**  
لأن حبوب اللقاح الخصبة تحتوي على يزيد محتواها من النشا والمعروف ان اليود يحول لون النشا الى اللون الازرق عكس حبوب اللقاح العقيمة التي يقل محتواها من النشا فيظل لونها بلون اليود الفاتح فيسهل تمييز الخصبة عن العقيمة عند الفحص.

\*\*\*\*\*

**٢- يجب تقطيع العينات كبيرة السمك الى أجزاء صغيرة (1/2 أو 1/4 أو أقل من ذلك) عند خطوة أخذ العينات ووضعها في المحاليل المختلفة؟**

حتى نضمن تخلل محلول القتل و التثبيت و كل المحاليل في الخطوات المتتالية الى كل الخلايا في العينة و بالتالي تتم كل الخطوات بصورة سليمة.

\*\*\*\*\*

٢٠ درجة

**السؤال الثالث: أجب عما يأتي(أجباري)**

**١) أكتب ما تعرفه عن : Numerical aperture - Chromatic aberration - أذكر الصفات التشريحية التي يمكن قياسها في قطاع عرضي لورقة نبات ذات فالتين؟.....١٠ درجات**  
**العيب أو الخطأ اللوني (Chromatic defect) (Chromatic aberration)-**

وهو يحدث عند مرور الضوء الأبيض كضوء أشعة الشمس في العدسة وضعة مثل فيودي ذلك الى تشتت هذا الضوء بالانكسار مما يؤدي الى تحليله الى ألوان الطيف المعروفة لأننا نعلم أن الضوء الأبيض مكون من مجموعة أنواع من الأشعة ذات موجات ضوئية مختلفة الطول و اللون ويختلف معامل انكسار كل منها في الزجاج وعلى فأن الأشعة الحمراء والبرتقالية التي تقع عند نهاية الأشعة المتحللة (وهي أطول في الطول الموجي) تنكسر بدرجة أقل و بذلك تتجمع بعيداً عن البؤرة الحقيقية التي تتجمع فيها الأشعة الزرقاء و البنفسجية وهذا ما يعبر عنه هنا بـ **Chromatic aber.** أي العيب الذي يعطى زركشة (**Fringes**) أو هالات (**Halos**) من الألوان في الصورة المشاهدة.

والعدسة التي تستخدم لتصحيح هذا الخطأ تسمى **Semiachromatic** وتوجد عادة في الميكروسكوب عدسة أو أكثر تصحح هاذين الخطأين وتسمى بأسم **Apochromatic** المشتق من **Aplanatic** و **Chromatic**.

\*\*\*\*\*

### - Numerical aperture : مقياس درجة الوضوح

وهو يمثل بكسر عشري أو رقم صحيح ( هو واحد) وبجواره كسر عشري يكتب على العدسة الشينية وهذا الرقم مهم جدا إذ يمثل ما يعرف بمقياس درجة الوضوح – وقد يسبق هذا الرقم الحرفين (N.A.) وهي اختصار Numerical aperture وتوجد معادلة للحصول على هذا الرقم هي  $N.A. = n \cdot \sin U$  وهي اختصار Numerical aperture أي درجة الوضوح و  $n =$  معامل إنكسار الضوء للوسط الذي تمر فيه الأشعة بين الشينية والمرئي  $u = 2/1$  زاوية مخروط الأشعة الداخلة إلى الشينية ونحصل عليها من جدول خاص (جدول Gay ١٩٣٦) أو من منتج أجهزة الميكروسكوبات و Sin أي جيب الزاوية ودرجة الوضوح N.A. تعبر عن قوة تمييز العدسة الشينية المستخدمة للمرئيات وتوجد علاقة بين N.A. وقوة التكبير لأي عدسة شينية فلو كانت قوة التكبير صغيرة جدا فدرجة توضيح الأجزاء تكون منخفضة كذلك لو كانت N.A. منخفضة جدا فإن درجة توضيح الأجزاء ستكون منخفضة ولو كانت قوة التكبير أكبر من اللازم عن N.A. فسترى صورة كبيرة ولكنها لن تكون واضحة. وبوجه عام يجب عدم استخدام شينيات الميكروسكوب المركب مع العينات المستخدمة في الحصول على تكبير يزيد عن ١٠٠٠ مرة قدر N.A. هذا بالنسبة للشخص سليم النظر أما بالنسبة للشخص ضعيف النظر فيكتفى بتكبير ٧٠٠-٨٠٠ مرة قدر N.A.

\*\*\*\*\*

يعدّد الطالب الصفات التشريحية التي يمكن قياسها في قطاع عرضي لورقة نبات ذات فلتين كما يأتي:

### Certain anatomical features of dicots. leaf

- 1) Thickness of upper epidermis cuticle layer
- 2) Thickness of Lower epidermis cuticle layer
- 3) Upper epidermis thickness
- 4) Lower epidermis thickness
- 5) Palisade tissue thickness
- 6) Spongy tissue thickness
- 7) Thickness of blade
- 8) Thickness of collenchyma layers below the upper epidermis at midrib
- 9) Thickness of collenchyma layers above the lower epidermis at midrib
- 10) Thickness of upper fibers layers in the vascular bundle
- 11) Thickness of xylem tissue
- 12) Number of xylem vessels in the vascular bundle
- 13) Thickness of widest xylem vessel in the vascular bundle
- 14) Thickness of phloem in the vascular bundle
- 15) Thickness of lower fibers layers in the vascular bundle
- 16) Length of midrib vascular bundle
- 17) No. of vascular bundle in midrib
- 18) Thickness of leaf midrib

\*\*\*\*\*

(٢) قارن بين فكرة عمل الميكروسكوب الضوئي المركب والميكروسكوب الإلكتروني - أذكر أجهزة القياس والفحص للشرائح النباتية ثم اشرح إحداها بالتفصيل؟..... درجات ١٠

الإجابة

- يقارن الطالب بين فكرة عمل الميكروسكوب الضوئي المركب والميكروسكوب الإلكتروني كما يأتي:

**قوة التكبير عند المجهر الضوئي** تتراوح بين: 1500x للمجهر الضوئي عالي الجودة ، 25x للمجهر

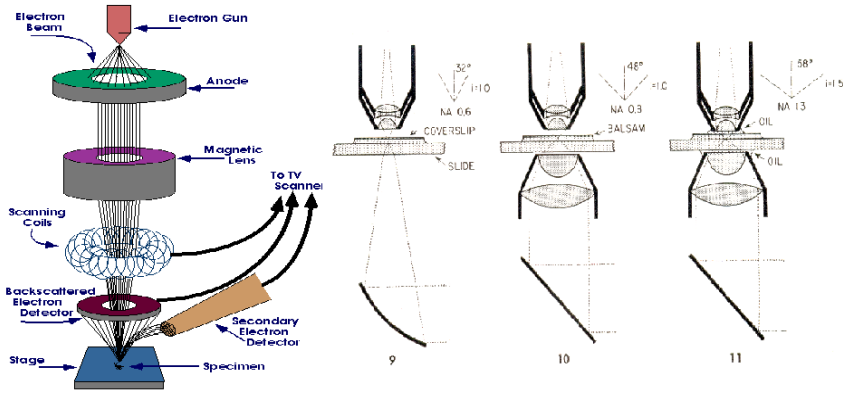
البسيط أو المجهر التشريحي وهي **Magnification power (M.P.)** وتساوي حاصل ضرب العينية x الشيئية لذلك مهما بلغت قوة التكبير عند الضوئي فلن تصل إلى أن تعطي تفاصيل واضحة داخل الخلية ومكوناتها خاصة مع الكائنات الدقيقة الحية مثل البكتريا و غيرها وتعتمد قوة التكبير على قوة التمييز و التبيين وذلك بسبب ما يعرف بقوة التبيين أو قوة التمييز **(R.P.) Resolution power**

**أما عن قوة التكبير عند المجهر الإلكتروني** النفاذ وصلت في ذلك الحين إلى 600,000 مرة فيمكنه أن يظهر أجساماً تصل من الصفر إلى أقل من جزء من مائتي جزء مما تظهره أحسن المجاهر الضوئية وذلك بفضل ما يعرف بقوة التمييز وهي أضعاف عن قوة التمييز في المجهر الضوئي وتساوي تقريباً ألف ضعف لذا تغلبت المجاهر الإلكترونية على الضوئية في قوة الإظهار والتبيين والتمييز إضافة إلى التكبير العالي الذي يعتمد علي **(R.P.)** عند تمرير الشعاع الإلكتروني خلال الجسم المراد فحصه ( العينة ) لنراها على لوحة تصوير ضوئي حساسة ومن ثم نقلها إلى أفلام أو إلى كمبيوتر متصل بالمجهر الإلكتروني

- **قوة التكبير تعتمد اعتماداً كلياً على قوة التمييز و التبيين**

- لذلك قوة التكبير في المجاهر الضوئية تعتمد على العدسات الشيئية(عدسات زجاجية ملموسة)
- بينما قوة التكبير في المجاهر الإلكترونية تعتمد على عدسات الكترونية ( غير ملموسة ) غير موجودة في الواقع وإنما تحصل في مكان تصميمها عندما يمر التيار الكهربائي
- تعتمد تكوين الصورة على أنه يحدث نتيجة لإرتظام الإلكترونات بسطح العينة ومنها تشتت متفاوت للإلكترونات.

- أما في المحهر الضوئي فإن تكوين الصورة يرجع لإمتصاص الإختياري للضوء . أى أن التباين يعود إلى عدد من الفوتونات **Photons** المختلفة من حيث طولها الموجي **Different wavelengths** من الشعاع المكون للمنظر .



الميكروسكوب الإلكتروني

الميكروسكوب الضوئي المركب

\*\*\*\*\*

يذكر الطالب أجهزة القياس والفحص للشرائح النباتية ثم يشرح إحداها بالتفصيل كالتالي:-

- يعدد الطالب أجهزة القياس والفحص للشرائح النباتية ثم يتكلم عن إحداها بالتفصيل كما يأتي:

### أجهزة خاصة بالقياس **Measuring accessories**

تستخدم هذه الاجهزة في معرفة الحجم المضبوط لكل **object** دقيق الحجم أو حجم الخلايا المختلفة في النبات أو طول الشعرات .....ألخ وأبسط هذه الأجهزة هي:

- 1-القرص المقسم **micrometer glass disk**
- 2-الشريحة الميكرومترية **stage micrometer**
- 3-القطعة العينية الميكرومترية

### 1- القرص المقسم **micrometer glass disk**

هو قرص زجاجي قطره 15 مم وسمكه حوالي 1 مم ومطبوع عليه تقسيمات صغيرة متقاربة ومتساوية وهو

يوضع فى العدسة العينية وذلك بفك العدسة العليا ( للعدسة لعينية) التى من نوع Huyghenian وذلك بعد إخراجها من قمة الأنبوبة ثم توضع مقلوبة على الحاجز الفاصل بينها وبين العدسة السفلى.

## ٢- الشريحة الميكرومترية stage micrometer

هى شريحة يوجد عليها تدريج طوله ٢ مم مقسم إلى أقسام عديدة - طول القسم الكبير منها ١٠٠ ميكرون وطول القسم الصغير ١٠ ميكرون ( 10 μ) وعندما يراد قياس طول أو عرض ( أبعاد ) عينة ميكروسكوبية ( خلية - نسيج - جراثيم - حبوب لقاح .....ألخ) يحدد باستخدام الشريحة الميكرومترية والعدسة الشيئية الصغرى ما يساويه التدريج الصغير من قرص العينية ثم تستبعد الشريحة الميكرومترية وتستخدم تدريجات القرص المقسم فى حساب قطر أو عرض الجزء المراد تقديره.

ولتقدير ما يساويه تدريج القرص المقسم يحسب كم قسم من القرص المدرج أنطبقت مع كم قسم على الشريحة الميكرومترية فمثلا لو أن خمسة أقسام من العينية أنطبقت مع عشرة أقسام من الشريحة الميكرومترية التى طول كل منها ١٠ ميكرون فيكون القسم داخل العدسة العينية  $10 \times 10 / 5 = 20 \mu$

يكرر ذلك مع استخدام العدسات الشيئية الأخرى لتحديد ما يساويه القسم بالعينية كالاتى:

١- القسم فى العينية باستخدام عينية X 10 و شيئية  $10 = X 20 \mu$

٢- القسم فى العينية باستخدام عينية X 10 و شيئية  $40 = X 5 \mu$

٣- القسم فى العينية باستخدام عينية X 10 و شيئية  $100 = X 2 \mu$

هذا ويمكن متى قدرنا ما يساويه القسم بالقوة الصغرى أن نحسب ما يساويه القسم فى العينية باستخدام القوة الأخرى كالاتى:

قوة التكبير x ما يساويه القسم بالعينية / قوة التكبير الجديدة

قوة التكبير = حاصل ضرب قوة تكبير الشيئية المستخدمة x قوة تكبير العينية المستخدمة فتكون فى الأحوال السابقة هى:

$$- \quad \mu 5 = (40 \times 10) / 20 \times (10 \times 10)$$

$$- \quad \mu 2 = (100 \times 10) / 20 \times (10 \times 10)$$

هذا وقد لا يحتاج الأمر إلى وضع disk فى العينية إذ أن بعض العينات مقسمة داخليا ( اى يوجد بها تدريج ) ويوجد جاهز خاص بالقياس يسمى القطعة العينية الميكرومترية.

## ٣- القطعة العينية الميكرومترية

وهى عبارة عن عدستين أحدهما تنزل فى انبوبة الميكروسكوب ( بدل العدسة العينية الأصلية ) والثانية تعلوها وبينهما جزء متوازى مستطيلات مركب عليه جانبيا مسمار مدرج من ( صفر - ١٠٠ ) وبالنظر خلال العينية (X10) يشاهد التقسيم الداخلى ويشاهد خط يمكن تحريكه باستخدام المسمار المدرج وطريقة استخدام هذا الجهاز كالاتى:

١- تحدد الشيئية المستخدمة مع العينية وتقدر قوة التكبير لهما ( أى قوة التكبير النهائية ) = قوة تكبير العينية x قوة تكبير الشيئية.

٢- يظبط إتجاه التدريج بالعينية مع إتجاه تدريج الشريحة الميكرومترية المدرجة ( الموضوع على مسرح الميكروسكوب ) ويثبت هذا الوضع بمسمار ملحق بالقطعة العينية الميكرومترية.

٣- تعمل لفة كاملة بالمسمار المدرج مع ضبط الخط المتحرك على أول تدريج معين ( وليكن ٥ مثلا ) وينظر خلال العينية عما إذا كان قد تطابق مع خط من تدريج الشريحة الميكرومترية وألا أستوجب الأمر عمل لفة كاملة ثانية وهكذا حتى يحدث الأنطباق بالضبط ثم بحساب عدد اللفات الكاملة التى طابقت تدريج طوله كذا - وبهذه الطريقة يمكن حساب ما يساويه اللفة الكاملة من تدريج الشريحة الميكرومترية - وحيث أن المسمار مدرج من ١ إلى ١٠٠ فيمكن حساب مقدار الوحدة المدونة على المسمار.

٤- فالطريقة إذن تتضح أولا باستخدام تدريج العينية الذى عرف مقدار الوحدة منه بالميكرون ثم التدريج الصحيح باستخدام المسمار يمثل ٠,١ ثم التدريج الصغير على المسمار يمثل ٠,٠١ وبذلك يظهر حجم الشيء كعدد صحيح وكسر عشري وكسر منوى ( أى مثلا ١٠,٥٢ μ) وهذا الجهاز له أهمية كبيرة فى الأبحاث النباتية.





**السؤال الرابع:- أجب عن نقطتان فقط مما يأتي:- (اختياري)**

١) لعملية تقطيع العينات بعد طمرها في الشمع أهمية كبيرة في الحصول على القطاعات للصبغ لذا أجب عن النقاط التالية:- (أ) أذكر المواد و الأدوات المستخدمة في عملية التقطيع..... ١٠ درجات الإجابة

ويتم تقطيع كتلة الشمع بواسطة مشرط ذو سلاح حاد ومستقيم حتى يصبح النموذج محاط بطبقة من الشمع. يتم القطع في خط مستقيم عبر كتلة الشمع، وليس عن طريق الضغط حتى لا تنكسر كتلة الشمع. يزال الشمع الزائد من حول النموذج بواسطة المشرط حتى يصبح النموذج محاط بطبقة من الشمع سمكها لا يقل عن ٢مم أما كتلة الشمع فإنها تزيد قليلا عن ذلك لإمكان تثبيت الكتلة علي حامل كتل الشمع الخاص بالميكروتوم كما يراعي أن تكون كتلة الشمع مناسبة لحجم النموذج حتى يسهل تقطيعها بسكين الميكروتوم.

لاصق الجيلاتين لهوبت **Haupt's gelatine**

١- جيلاتين نقي	١ جم	٢- جليسرين نقي	١٥ سم
٣- ماء مقطر	١٠٠ سم	٤- فينول	٢ جم

\*\*\*\*\*

ب) أذكر ثلاثة من عيوب التقطيع التي قد تواجهها مع كتابة أسبابها و طرق علاجها. الإجابة

ثلاثة من عيوب تقطيع العينات باستخدام الميكروتوم الدوار

١- التواء القطاعات وعدم التحامها معا

الاسباب

أ\_ درجة انصهار الشمع غير متناسبة مع درجة حرارة المعمل.

ب لم يتم تسوية كتلة الشمع قبل تثبيتها علي حامل الميكروتوم.

ج السكين المستخدمة غير حادة تماما وبها تعرجات أو حفر.

كيفية التغلب على هذه المشكلة

أ أن لا يكون شمع البرافين جامد جداً.

ب أن يكون وضع السكين علي زاوية قائمة مع حامل النموذج.

ج تقليل السمك حيث أن في كثير من الأحيان يوقف التواء القطاعات.

د أن تقوم بمسك حافة القطاع بواسطة فرشاة طرفها منبسط و ثم تنثني هذه الحافة إلي أسفل في اتجاه السكين ثم توضع القطاع علي شريحة زجاجية بحيث يكون جزئه الطرفي إلي أسفل ويتم

التسخين بلطف فينفرد القطاع.

2- انشطار الشريط

الاسباب

أ-وجود عيب في حافة السكين.

ب -الشمع غير منصهر بشكل جيد.

ج-وجود مواد صلبة مختلطة مع الشمع(رمل.)

كيفية التغلب على هذه المشكلة

أ -يتم تغيير حافة السكين.

ب-يتم اعادة عملية الطمر.

ج-تستخدم ابرة تشريح ساخنة لابعاد الرمال الموجودة أو يعاد الطمر في شمع جديد.

٣ -عدم تكون شريط من الشمع

حيث يلاحظ ان الشمع يتفتت و لا تلتصق القطاعات و لا يتكون الشريط ولكن تكون عبارة عن مقاطع مفردة وتكون القطاعات ملتفة على هيئة اسطوانة.

الاسباب

أ-وجود آثار من مادة الترويق.

ب-الشمع المستخدم غير نقي او طرى او غير صلب بالدرجة الكافية.

- ج- الشمع صلب جدا.  
د-زاوية وضع السكين بالنسبة للعينة غير مناسب.  
كيفية التغلب على هذه المشكلة  
أ-إعادة عملية الترقيد والتخلص من آثار مادة الترويق.  
ب-اختيار نوعية شمع مناسبة.  
ج- تحريك السكين ببطء تجاه العينة أى تقليل السرعة.  
د-ضبط زاوية وضع السكين ( ٥ ٤ درجة مئوية)

\*\*\*\*\*

٢) أشرح طريقة تحضير شريحة للفحص المجهرى لدراسة أطوار الانقسام الميتوزى فى جذور البصل؟..... ١٠ درجات  
الإجابة

تستخدم القمم النامية لجذور نبات البصل *Alium Cepa* أو الفول المصري *Vicia faba* لدراسة الانقسام الفتيلي (الميتوزى) في الخلايا النباتية وذلك لأن الانقسام يكون نشطاً في القمم النامية للجذور .  
الاحتياجات : محلول كارنوى – صبغة الاستيوكارمن أو الاستيواورسين – حامض خليك ثلجى – بصل نابت – كحول ايثللى – حمض الهيدروكلوريك – كلوروفورم- شفرة حلاقة صدنة – شرائح مجهرية – أغطية للشرائح – مجهر ضوئى .

طريقة تحضير شرائح مجهرية للانقسام الفتيلي (الميتوزى) :

١- يتطلب التمرين التحضير المسبق لعينات الجذور الأولية لنبات البصل و/أو نبات الفول المصري وذلك بستنبتات النبات بوضعه في الماء لمدة تتراوح بين ٣ الى ٥ أيام عند درجة حرارة الغرفة حيث تصل أطوال الجذور النامية الى ٥,٠-٢,٥ سم

تستخدم الجذور النامية الصغيرة من البصل أو الفول ولا تستخدم الجذور الأولية لقلة الانقسامات الميتوزية بها .  
٢- تضاف ٠,٠٥% من مادة الكولشيسين ( Cholchicine ) الى التحضير وتترك لمدة ٢٠-٣٠ ساعة بغرض إيقاف عمل خيوط المغزل وتثبيت الانقسام عند الطور الاستوائى (metaphase) . لاحظ أن مادة الكولشيسين مادة مسرطنة (carcinogen) و يجب التعامل معها بحرص شديد.

٣- تعد قطع بطول حوالي ١ سم من أطراف القمم النامية للجذور إما للاستخدام الفورى أو للاستخدام في أوقات لاحقة حيث تجمع القمم النامية للجذور وتحفظ في محلول كارنوى ( carnoy's ) لمدة ٢٤ ساعة في درجة حرارة الغرفة ثم تنقل الجذور إلى ٧٠% كحول ايثللى ethyl alcohol وتحفظ في ثلاجة لحين الاستعمال. يمكن حفظ هذه العينات بحالة جيدة لمدة تتراوح بين ٢-٣ سنوات.

٤- تلين الجذور النامية بتقطيعها إلى أجزاء صغيرة ( ٣-٤ مم ) ووضعها في قليل من حمض الهيدروكلوريك HCl لمدة ٣-٥ دقائق . تفصل الخلايا وتنسب بفعل الحمض ويمكن اختبار طراوة الجذور بالضغط عليها بدبوس أو إبرة تشريح .

٥- توضع نقطة من صبغة الاستيوكارمين Aceto-carmein على شريحة مجهرية نظيفة وتنقل قطعة الجذر الطرية إلى الصبغة بواسطة ابرة أو ملقط .

٦- تقطع قطعة الجذر إلى قطع صغيرة بواسطة دبوس أو شفرة حلاقة صدنة إذ يتفاعل الحديد مع الصبغة ليعطى تحضيراً أفضل للخلايا .

٧- تغطى الشريحة بغطاء نظيف ثم تسخن بلطف على لهب كحولى ( يحذر من الغليان ) .

٨- توضع الشريحة ما بين ورقتي ترشيع أو ورق نشاف ويضغط بالإبهام خفيفاً على غطاء الشريحة لفصل الخلايا وفردها وهذا ما يعرف بالهرس squash.

٩- تفحص الشريحة تحت المجهر لمعاينة أجزاء الخلية وأطوار الانقسام . يلاحظ أن مكونات الخلايا لا تظهر جميعها في شريحة واحدة إذ أن رؤية هذه المكونات تستلزم أصباغ وطرق تحضير معينة .

\*\*\*\*\*

٣) لديك عينة نباتية تحتوى على أنواع مختلفة من الأنسجة وأردت أن أصبغها لتمييز الأنسجة المغلظة بالسليولوز عن المغلظة بالجلين والمغلظة بالسوبرين - أذكر نوع الصبغ المستخدم وتتابع أحواض الصبغ وما الألوان المتوقعة لهذه الأنسجة بعد الصبغ؟..... ١٠ درجات

الإجابة



