Al-Mustaqbal University
جامعة المستقبل
College of Agriculture Techniques
كلية التقنيات الزراعية

Department of medicinal plant technologies and natural product

قسم تقنيات النباتات الطبية و النواتج الطبيعية

المرحلة الأولى

الفصل الدراسي الثاني

((تشريح النبات العملي))

رقم المحاضرة: 3

اسم المحاضرة

إعداد شرائح زجاجية مؤقتة

أستاذة المادة

م.م. هيمن وليد

إعداد الشرائح الزجاجية المؤقتة

المقدمة

في دراسات الأحياء والتشريح المجهري ، تُعد الشرائح الزجاجية المؤقتة من الأدوات الأساسية التي تُستخدم لفحص العينات الحية أو الطازجة تحت المجهر . يتم إعداد هذه الشرائح بسرعة و سهولة لمراقبة الهياكل الخلوية و الأنسجة دون الحاجة إلى عمليات تثبيت أو حفظ دائمة .

أولًا : تعريف الشريحة الزجاجية المؤقتة

هي شريحة يتم تحضيرها على زجاج شفاف يوضع عليه العينة المراد دراستها ، مع إضافة قطرة من محلول مناسب و تغطيتها بغطاء زجاجي رقيق لحمايتها و منع جفافها أثناء الفحص بالمجهر . تُستخدم هذه الشرائح لفحص العينات الحية مثل الخلايا النباتية .

ثانيًا: الأدوات و المواد اللازمة لإعداد الشريحة الزجاجية المؤقتة

1. الأدوات الزجاجية

شريحة زجاجية : قطعة زجاجية مستطيلة تُستخدم لوضع العينة عليها .

غطاء شريحة : قطعة زجاجية رقيقة تُوضع فوق العينة لحمايتها و توزيع السائل بالتساوي .

2. الأدوات المساعدة

إبرة تشريحية أو ملقط : تُستخدم لنقل العينة بدقة إلى الشريحة .

ماصة أو قطّارة : لإضافة المحلول المناسب على العينة .

منشفة ورقية أو قطعة قماش : لإزالة أي سائل زائد من حواف الشريحة .

3. المحاليل المستخدمة

* **الماء المقطر** : يُستخدم كوسط شفاف لتوضيح العينة .

* **محلول اليود** : يُستخدم لصبغ الأنسجة النباتية و إظهار التراكيب الداخلية .

* **محلول الملح الفسيولوجي** : يُستخدم للحفاظ على العينات الحية من الجفاف .

* **محلول الميثيلين الأزرق**

ثالثًا : خطوات إعداد الشريحة الزجاجية المؤقتة

1. تحضير العينة

- تُؤخذ العينة الطازجة باستخدام ملقط أو إبرة تشريحية .
- إذا كانت العينة كبيرة ، يتم تقطيعها إلى جزء رقيق ليسهل رؤيتها تحت المجهر.
- تُستخدم محاليل التلوين عند الحاجة لإظهار تفاصيل العينة.

2. وضع العينة على الشريحة الزجاجية

- تُوضع العينة في منتصف الشريحة الزجاجية النظيفة و الجافة .
- تُضاف قطرة من الماء المقطر أو المحلول المناسب لتغطية العينة .

3. تغطية العينة بغطاء الشريحة

- يُمسك الغطاء الزجاجي من أحد حوافه و يوضع بزاوية 45 درجة فوق العينة .
- يُترك الغطاء يلامس السائل ثم يُخفض ببطء لتجنب احتباس فقاعات الهواء .

4. إزالة السوائل الزائدة

إذا وُجدت أي سوائل زائدة حول الغطاء الزجاجي ، يتم إزالتها باستخدام منشفة ورقية .

5. فحص الشريحة تحت المجهر

- تُوضع الشريحة على منصة المجهر وتُضبط العدسات للحصول على صورة واضحة للعينة .
- يتم تكبير العينة تدريجيًا لملاحظة التفاصيل الدقيقة .

رابعًا : مميزات وعيوب الشرائح الزجاجية المؤقتة

المميزات

* سهلة و سريعة التحضير .
* تُحافظ على العينات الحية لفحص العمليات الحيوية .
* تُستخدم لاختبار استجابات الخلايا للمحاليل المختلفة .

العيوب

* لا تدوم طويلًا بسبب تبخر السائل أو جفاف العينة .
* قد تتحرك العينة تحت الغطاء الزجاجي ، مما يُسبب تشويشًا في الصورة .
* قد تتلف الأنسجة بسبب الضغط الناتج عن الغطاء الزجاجي .

خامسًا: التطبيقات العملية للشرائح الزجاجية المؤقتة

فحص الخلايا النباتية مثل خلايا البصل : تُستخدم صبغة اليود لإظهار النواة و جدار الخلية .

سادسًا : الاحتياطات و إجراءات السلامة

* غسل اليدين جيدًا قبل و بعد تحضير الشريحة .
* التعامل بحذر مع الأدوات الزجاجية لتجنب الكسر .
* تجنب لمس الغطاء الزجاجي مباشرة لتفادي تلوث العينة .
* استخدام الماصات و القطارات بعناية لإضافة المحاليل دون إفراط .

تحضير الشرائح الزجاجية المؤقتة

طريقة العمل :

أ- خذ شريحة زجاجية نظيفة و جافة و كذلك الحال مع غطاء الشريحة حيث يتم تنظيف الشريحة بتغطيسها في ماء مقطر او ماء مقطر أضيفت اليه بضع قطرات من حامض الكبريتيك بتركيز 5 % ثم امسح الشريحة الزجاجية بقطعة قماش نظيفة و جافة .

ب ـ ضع قطرة من الماء في وسط الشريحة الزجاجية ثم ضع الجسم المراد فحصه بالمجهر في تلك القطرة (و يجوز العكس) ثم ضع غطاء الشريحة بوضع مائل (45) بالقرب من القطرة ماسكا الغطاء باليد اليسرى ثم ضع ابرة التشريح تحت الجهة الثانية من الغطاء البعيدة عن الشريحة . اخفض غطاء الشريحة تدريجيا و ذلك بحسب الابرة الى ان يقع الغطاء فوق القطرة فيغطيها تفاديا لتجمع بعض الفقاعات الهوائية .

يجب التخلص من الماء الزائد الذي يسيل مقدار منه خارج غطاء الشريحة و ذلك بالاستعانة بورق النشاف ، اما اذا طفح جزء من الماء فوق غطاء الشريحة فيجب ابدال الغطاء و إعادة العملية مجددا او ابدال الغطاء و إزالة الماء الزائد بواسطة الورق النشاف .

ج ـ عندما يراد فحص مقاطع من الاعضاء النباتية المختلفة حية كانت او محفوظة فتحضر المقاطع اما باليد بواسطة الموس او سكين حاد او شفرة حلاقة او باستعمال الات خاصة تعرف بالمايكروتومات الذي توجد أنواع مختلفة منها . و تعتبر الطريقة اليدوية من الطرق السهلة و الشائعة في تحضير المقاطع للدراسة العملية بالنسبة للطلبة بصورة خاصة و ان كان من الصعوبة الحصول على مقاطع تقل عن 20 مايكرون سمكا بهذه الطريقة .

فإذا كان الجزء النباتي المراد قطعه صعبا كالساق او الجذر او الأوراق السميكة و يمكن الإمساك به بين الأصابع دون ان ينثني تجرى عملية القطع مباشرة .

اما اذا كان الجزء النباتي صغيرا او رقيقا و لا يمكن مسكه بسهولة بين الأصابع فيوضع بين نصفي قطعة مناسبة

السمك و الطول من نبات البيلسان او جذور نبات الجزر او مادة الستايروفورم او نخاع البيلسان فيستحسن ربط قطعة نخاع البيلسان او الستايروفورم و العينة ضمنها بخيط رفيع ثم وضعها في الماء لفترة من الزمن لتسهيل عملية القطع ثم توضع القطعة بين السبابة و ابهام اليد اليسرى بحيث يظهر جزء صغير منها يكفي لعمل عدة مقاطع منها ، ثم يقبض الموس او السكين او شفرة الحلاقة باليد اليمنى بحيث يكون افقيا قدر الإمكان .

يفضل ان تكون الة القطع و القطعة مبللة بالماء دائما اثناء القطع . امرر بعد ذلك الة القطع بصورة سريعة و متوازية عدة مرات للحصول على المقاطع . انقل المقاطع بواسطة فرشاة من على حافة الة القطع الى الشريحة الزجاجية ثم ضع قطرة من الماء و غطاء الشريحة كما سبق توضيحه سابقا و افحصه بالمجهر .

د ـ عندما يراد فحص العينة بعد تلوينها فتوجد أنواع مختلفة من الصبغات تستخدم في الدراسة العملية ، تعطي كلا منها لونا خاصا لجزء او أجزاء معينة من العينة حسب تركيبه الكيمياوي نذكر منها :

1. محلول اليود : يصبغ المواد النشوية باللون الأزرق و البروتوبلازم باللون الأصفر و يحضر بإذابة 12.7 غم من اليود في 30 سم^3 من الماء المقطر يحتوي على 20 غم من يوديد البوتاسيوم KI ثم يكمل الحجم الى لتر بالماء المقطر .

2. اسيد فوشين : تستعمل هذه الصبغة في تصبيغ أجزاء الخلايا و الانسجة السليلوزية باللون الأخضر و تستعمل كذلك في تصبيغ المايتوكوندريا . و تحضر بإذابة 1 غم من الصبغة في 100 سم^3 من كحول اثيلي بتركيز 70 % او 100 سم^3 من الماء المقطر .

3. الأخضر السريع : هذه الصبغة ممتازة جدا في تصبيغ السايتوبلازم و المواد السليلوزية و خيوط المغزل في الانقسام الخلوي . و تحضر بإذابة 1 غم او 0.5 غم في 100 سم^3 من الكحول الاثيلي المطلق . (يجب تحضير الصبغة قبل عدة أيام من الاستعمال) .

4. سودان 3 و سودان 4 : و تستعمل هذ الصبغة بصورة واسعة في تصبيغ المواد الشمعية و القنوات الراتنجية و الحليب النباتي و الجدران الخلوية المسوبرة و الملكننة و تستعمل أيضا في تصبيغ البلاستيدات الخضراء . و تحضر بإذابة 0.5 غم من الصبغة في 100 سم^3 من كحول اثيلي تركيز 70 % .

5. السفرانين : و هي من الصبغات المهمة جدا و الشائعة الاستعمال في تصبيغ الانسجة النباتية حيث تصبغ جميع التراكيب الملكننة و المسوبرة و الكروموسومات و النواة و السنتروسوم .
و تحضر بإذابة 1 غم من الصبغة في 100 سم^3 من كحول اثيلي مطلق و تترك لمدة (24 - 48) ساعة قبل الاستعمال .

ذ ـ و تتبع احدى الطريقتين التاليتين في تصبيغ العينات عند تحضير الشرائح المؤقتة :
1. إما توضع قطرة من الصبغة فوق الشريحة الزجاجية و يوضع فيها الجسم المراد فحصه ثم يوضع غطاء الشريحة حسب ما ورد سابقا .

2. او يوضع الجسم فوق قطرة من الماء و يغطى بغطاء الشريحة ثم توضع قطرة من محلول الصبغة عند احدى جهات الغطاء ثم توضع قطعة صغيرة من ورق النشاف عند الجهة المقابلة للجهة التي وضعت فيها القطرة و يكون وضع قطعة النشاف بحيث تلامس الماء الكائن تحت الغطاء و بهذا ينسحب الماء من تحت الغطاء و تحل محله قطرة الصبغة .