التدريب المعملي الأول
الانقسام الميتوزى في القمة النامية لجذور النبات

تستخدم القمم النامية لجذور نبات البصل *Alium Cepa* أو الفول المصري *Vicia faba* لدراسة الانقسام الفتيلي (الميتوزى) في الخلايا النباتية و ذلك لأن الانقسام يكون نشطاً في القمم النامية للجذور .

الاحتياجات: محلول كارنوى – صبغة الاستيو كارمن أو الاستيواورسين – حامض خليك ثلجى – بصل أو فول مصرى نابت – كحول ايثيلى – حمض الهيدروكلوريك – كلوروفورم- شفرة حلاقة صدئة – شرائح مجهرية – أغطية للشرائح – مجهر ضوئي .

طريقة تحضير شرائح مجهرية للانقسام الميتوزى :

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

٢- تستخدم الجذور النامية الصغيرة من البصل أو الفول ولا تستخدم الجذور الأولية لقلة الانقسامات الميتوزية بها .

٣- تضاف ٠,٠٥% من مادة الكولشيسين (Cholchicine) الى التحضير و تترك لمدة ٢٠-٣٠ ساعة بغرض ايقاف عمل خيوط المغزل و تثبيت الانقسام عند الطور الاستوائي(metaphase). لاحظ أن مادة الكولشيسين مادة مسرطنة(carcinogen) و يجب التعامل معها بحرص شديد.

٤- تعد قطع بطول حوالي ١ سم من أطراف القمم النامية للجذور إما للاستخدام الفوري 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 ايثيلي ethyl alcohol وتحفظ في ثلاجة لحين الاستعمال. يمكن حفظ هذه العينات بحالة جيدة لمدة تتراوح بين ٢-٣ سنوات.

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

٦- توضع نقطة من صبغة الاستيواورسين Aceto-orcein على شريحة مجهرية نظيفة وتنقل قطعة الجذر الطرية إلى الصبغة بواسطة ابرة أو ملقط .

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

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

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

١٠- 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 .

- سوف تعطي شرائح جاهزة للانقسام الميتوزى في الحيوان.

التمرين:

١- أفحص الشريحة تحت المجهر الضوئي مستخدماً عدسات التكبير المختلفة .

٢- تعرف على مكونات الخلية المختلفة (النواة – الكروموسومات- المغزل- الفجوات الخ) .

٣- بين الأطوار المختلفة للانقسام الميتوزى في النبات (تمهيدي ، استوائي ، انفصالي، نهائي).

٤- ميز عدد وشكل الكروموسومات (الكروماتيد–السنترومير- الأذرع...الخ) .
٥- وضح الاختلافات بين الشريحة التي حضرتها والشريحة الجاهزة التي وفرها الأستاذ .
٦- أرسم مراحل الانقسام المختلفة للانقسام الميتوزى في البصل والفول المصري وارسم خلية بها كل العضيات التي شاهدتها.
٧- فرق بين الانقسام الميتوزى في النبات والحيوان .

محاليل مخزنة Stock Solutions:

١/ محلول كارنوى Carnoy's

٦ أجزاء كحول إيثيل مطلق Absolute Ethanol

٣ أجزاء كلورفورم Chloroform

١ جزء حامض خليك ثلجي glacial acetic acid أو حامض بروبيونيك propionic acid

- يحضر المحلول قبل الاستخدام مباشرة.

٢/ صبغة الإسيتوكارمن Aceto-carmine

يضاف جرام واحد من مسحوق الكارمين إلى ٢ مل من ٤٥ % من حامض الخليك acetic acid أو البروبيونيك في درجة الغليان . يستمر في غليان الصبغة لمدة ١-٢ دقيقة أو إلى أن يتحول المحلول فجأة إلى اللون الداكن. تبرد الصبغة وترشح وتحفظ في زجاجات بنية .

٣/ صبغة الاسيتو أورسين Aceto-orcein

يذاب ٢ و ٢ جرام من مسحوق الأورسين في ١٠٠ مل حامض خليك ثلجي glacial acetic acid أو حامض بروبيونيك ويغلى ببطء . يبرد المحلول ويحفظ في زجاجات داكنة اللون قبل الاستعمال مباشرة تخفف الصبغة الماء إلى تركيز ٤٥% ثم ترشح وتستخدم .