Preparation of higher plant samples:
To prepare a complete samples of higher plants. small leaves or small parts of large leaves or flower parts or stripped leaf and stems epidermises, and other parts. Two methods include:

تحضير عينات النباتات الراقية :

يمكن تحضير عينات كاملة من النباتات الراقية كالأوراق الصغيرة أو أجزاء من الأوراق الكبيرة أو أجزاء الزهرة أو سلخات بشرة الأوراق والسيقان وغيرها، ومن هذه الطرق ما يلي:

A – Clearing method:

This technique is suitable for the preparation of the whole samples. proposed by Shobe and Lersten (1967) which demonstrated extraordinary ability to prepare all of the fresh specimens or dry samples that taken from Herbarium.

أ . تحضير العينة بالترويق : Clearing method

وهذه التقنية المناسبة لتحضير العينات الكاملة اقترحت من قبل شوب وليرستين (1967م Shobe and Lersten) والتي أثبتت قدرة فائقة على تحضير كل من العينات الحية الطازجة أو الجافة المأخوذة من المعشبة.Herbarium

Leaf fragments :

1 – Place a fresh rectangular leaf fragment about 0.5 cm on a slide with its upper or lower surfaces against the slide.

2. Place a drop of chloral hydrate fluid and carefully balance a cover glass.

3. Fill in the space under the cover glass with clearing fluid and heat gently for few seconds, cool it and observe the specimen with low magnification of a bright-field microscope.

قطع الأوراق:

1- ضع قطعة مستطيلة ورقة طازجة حوالي 0.5 سم على شريحة السطح العلوي أو السفلى تجاه الشريحة.

2 .ضع قطرة من السوائل الهيدرات كلورال Chloral hydrate ثم ضع غطاء الزجاج بتوازن وبعناية.

3 .املأ الفراغ تحت غطاء الزجاج بسائل الترويق وسخن بلطف لبضع ثوان، قم بتبريده وافحص العينة بالمجهر تحت قوة التكبيرالصغرى واضاءة جيدة.

B - Stripped epidermis:

To study the characteristics of the Epidermal cells. There are several methods to prepare the plant samples, the simplest is performed stripping the epidermis layer of the leaf or stem of the plant, to study the types of epidermal cells, stomata , trichomes and Cuticle.

ب . تحضير سلخات بشرة النبات : Epidermal strips

لدراسة صفات خلايا البشرة Epidermal characters هناك عدة طرق لتحضير العينات النباتية، وأبسط هذه الطرق هي التي تجرى بسلخ طبقة البشرة نفسها من على العضو النباتي كالورقة أو الساق لدراسة أنواع خلايا البشرة والثغور Stomata والشعيرات Trichomes والأدمةCuticle

Stripped epidermis Method:

1- Take a fresh leaf of a plant.

2. Stretch and break it by applying pressure.

3. While breaking it, keep it stretched gently so that some peel projects out from the cut.

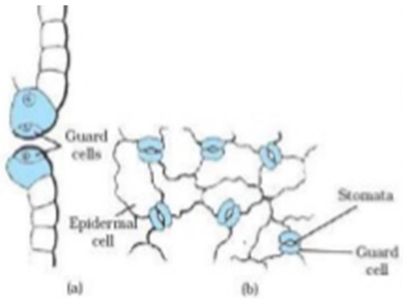
4. Remove this peel and put it in a Petri dish filled with water and add a few drops of safranin.

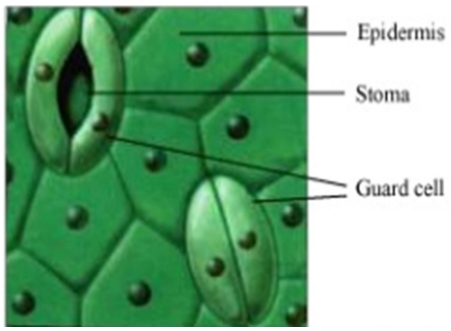
5. Wait for few minutes and then transfer it onto a slide.

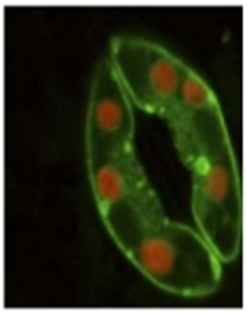
6. Gently place a cover slip over it.

7 .Observe under microscope. When observed under Microscope. Outermost layer of cells called EPIDERMIS (dermal tissue) is seen

Leaf EpidermisLeaf Epidermis







Stripped epidermis of onion:

I. make wettable a perfectly clean slide (pass it through the flame of a spirit lamp, or a Bunsen burner, a couple of times on both sides).

2. put a drop of water (or stain) in the center, and lay on it the

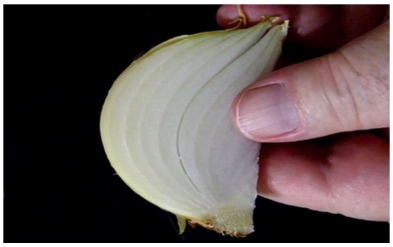
sample, if possible with the face that was attached to the mesophyll downwards.

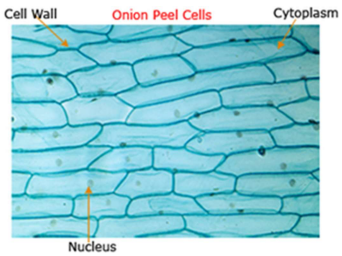
3. Add a small drop of water (or stain) so that it does not dry out.

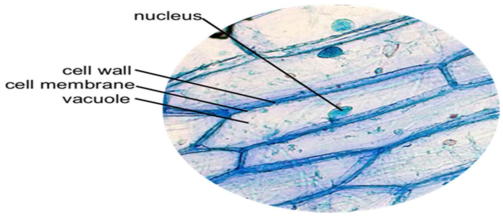
4. Holding one bar with forceps, with a sharp scalpel cut with care next to the bar, freeing that end of the peel.

5. Carefully apply the coverslip with common precautions and if it seems necessary, absorb a little liquid so that the weight of the coverslip flattens the epidermis.

.6The result is a peeling of a very good size of Onion Epidermis.







4 - Maceration Method:

When studying individual or isolated cells, the transverse or longitudinal sections of the samples are not enough to clarify those cells, so Maceration Method used. Various solutions are used to separate a Plant samples into its individual cells. These solutions dissolve or weaken the middle lamella so that the cells are easily shaken or teased apart

رابعاً . طريقة التفكيك Maceration Method

عند دراسة الخلايا المفردة أو المعزولة فإن القطاعات العرضية أو الطولية للعينات لا تكفي لتوضيح تلك الخلايا، ولذا يستعان بتفكيك خلايا وأنسجة العينة إلى خلايا منفصلة (معزولة) عن بعضها البعض، ويتم ذلك بإذابة مادة الصفيحة الوسطى التي تربط بين الجدر الخلوية وكذلك المواد الإضافية الأخرى، وتسمى هذه الطريقة بالتفكيك حيث يتم فيها فصل الخلايا بعضها عن بعض دون إلحاق الضرر بجدرها، وهناك عدة طرق للتفكيك تختلف حسب المواد المستخدمة، ومنها:

1 – Boiling water:

This method is used to macerate samples of a few soft woody tissues and cells and its cell walls consist of Pictec and cellulosic substances or separating limited layers of tissue, for example, Parenchyma tissues

أ . الماء المغلي : Boiling water

تستعمل هذه الطريقة لتفكيك العينات النباتية الطرية قليلة الأنسجة الخشبية والتي تتكون جدر خلاياها من مواد بكتية وسليولوزية أو فصل طبقات محدودة من النسيج البرنشيمي مثلاً

2- 5% sodium or potassium hydroxide solution:

This method is used to separate individual cells, Parenchyma tissues or lignified elements within Parenchyma tissues or a group of a few lignified cells

ب ـ محلول 5 ٪ هيدروكسيد الصوديوم أو البوتاسيوم :

تستخدم هذه الطريقة لفصل خلايا الأنسجة البرنشيمية أو العناصر الملجننة الفردية المغمورة في النسيج البرنشيمي أو مجموعة من الخلايا قليلة التلجنن

3 - 10% chromic acid solution and 10% nitric acid

This method is used to macerate some of the tissue that consists of a single layer of cells as Almgannh in his palace some seeds or group of cells Almgannh submerged in the textile Albornchimi.

ج ـ محلول 10 ٪ حمض الكروميك و 10٪ حمض النتريك :

تستعمل هذه الطريقة لتفكيك بعض الأنسجة التي تتكون من طبقة واحدة من الخلايا الملجننة كما في قصرة بعض البذور أو مجموعة من الخلايا الملجننة المغمورة في النسيج البرنشيمي

4 -SCHULTZE'S MACERATION METHOD.

Schultze used strong nitric acid and potassium chlorate:

1 - Put the material, which should be in very small pieces, into a test-tube.

2 - pour on just enough nitric acid to cover it, and then add a few crystals of potassium chlorate.

3 - Heat gently until bubbles are evolved, and let the reagent act until the material becomes white. Four or five minutes should be sufficient. The fumes are disagreeable and are very injurious to microscopes.

4 - Pour the contents of the tube into a dish of water. After the material is thoroughly washed in water, it may be teased with needles and mounted, or it may be put into a bottle of water and shaken until many of the cells become dissociated

د . طريقة سكالتز للتفكيك: Schultz’s maceration process

تستعمل طريقة سكالتز لتفكيك الأنسجة التي تحتوي جدر خلاياها على نسبة كبيرة من مادة اللجنين (جدر ملجننة) وهي طريقة سريعة وفعالة ويمكن إجراؤها أثناء الدروس المعملية.

- 1ضع العينة، والتي ينبغي أن تكون قطع صغيرة جدا، في أنبوب اختبار.

2 - صب عليها ما يكفي من حمض النيتريك للتغطية، ومن ثم إضافة عدد قليل من بلورات كلورات البوتاسيوم.

3 - سخن بلطف حتى تصاعد الفقاعات، اترك الكاشف يعمل لأربع أو خمس دقائق حتى تصبح العينة بيضاء. الأبخرة كريهة وهي ضارة جدا للمجاهر.

4 – صب محتويات الأنبوب في طبق من الماء واغسل جيدا بالماء، ويمكن تحريكها بالابرة، أو قد توضع في زجاجة من الماء وتهتز حتى تنفصل الخلايا

5 - Sectioning Method or Microtomy:

Preparation of large botanical specimens that can not be examined directly under Light Microscope must be cut into small pieces, involve to schedules appropriate time, and use of certain solvents, according to the nature of these samples. It is the first step to prepare a slide of the plant material for microscopic investigation. Fresh or preserved materials are cut into thin sections at suitable plane. It is essential to cut section thin enough to observe the details at the required level. Hand sectioning is carried out with sharp razor. Uniform section of given thickness can be obtained by special Machines called Microtome. Prior to microtome sectioning, material is processed which involves the following steps:

1 – fixation. 2 – dehydration.

3 – Clearing 4 – Sectioning

– 5embedding 6 – Staining

7 -Mounting

- - 5طريقة القطع أو الميكروتوم:

إعداد العينات النباتية الكبيرة التي لا يمكن فحصها مباشرة تحت المجهر الضوئي يجب أن تقطع إلى قطع صغيرة، تنطوي على جداول الوقت المناسب، واستخدام بعض المذيبات، وفقا لطبيعة هذه العينات. هذه هي الخطوة الأولى لإعداد شريحة من المواد النباتية للتحقيق المجهري. يتم قطع المواد الطازجة أو المحفوظة في

أقسام رقيقة في الطائرة المناسبة. فمن الضروري لقطع القسم رقيقة بما فيه الكفاية لمراقبة التفاصيل في المستوى المطلوب. يتم إجراء التقسيم اليد بها مع الحلاقة حادة. يمكن الحصول على قسم موحد من سمك معين من قبل آلات خاصة دعا مشراح. قبل مشراح باجتزاء، تتم معالجة المواد التي تنطوي على الخطوات التالية: