Steps of plant tissue dissection

1. Fixation process: To dissect the plant sample, a small piece of it is taken and placed in the Formaline Aceto Alcohol (FAA) fixing solution for the purpose of preserving and fixing these samples. Each 100 ml of this solution consists of 90 ml of ethyl alcohol, 70% concentration, and 5 ml of acetic acid. ice and 5 mL of formalin, the forms were left in the solution for 24-48 hours.
2. 2. Washing and Preservation: It was washed with 70% ethyl alcohol twice, one for an hour and the other for 18 hours, in order to get rid of traces of the fixative solution. Here, samples can be preserved for long periods with 70% ethyl alcohol, or continue to work
3. . Dehydration process: The cut parts were passed through an escalating series of ethyl alcohol (70 - 80 - 90 - 95%) for an hour each, then placed in 100% absolute ethyl alcohol for a full night
4. 4. Clearing: The samples were placed in a mixture of absolute ethyl alcohol and xylene in proportions of 1:3, 1:1 and 3:1, and pure xylene for 30 minutes each.
5. 5. Infiltration process: Then it was transferred to a mixture (size to size) of xylene and paraffin wax in an oven at a temperature of 60 °C for 4 hours, then in paraffin wax for a full night at the same temperature.
6. 6. Embedding process: Pure paraffin of the same temperature was poured into metal cubes, samples were placed in them, labeled, and left to cool under running water for a whole night, to be ready for cutting.

7. Cutting process: The molds containing the models were prepared in the form of organized cubes containing the model in its center. The mold was installed in the place designated for it in the Microtome (MSE) device, and the precise cutting process was performed with a thickness of 10-15 micrometers per slice, and the strips were arranged Consisting of the cutting process according to the sequence, and these tapes were cut into pieces of 5 cm in length.

8. Affixing the Ribbon: For the purpose of fixing the sections on the glass slides, a drop of Myers albumin was placed on the glass slide and it was well distributed on the slide by wiping it with the finger, a few drops of distilled water were placed on top of the albumin layer and transferred Tapes to the slide to float up The water layer, and the slides were placed on a hot plate at a temperature of 35 C. The tapes were arranged on the surface of the slide, and the glass slides were left on the hot plate until the water evaporated completely and the models stuck to the slides.

For the purpose of getting rid of the wax, the slides were placed in a Coplin jar filled with xylene for an hour. This process was repeated three times to ensure that the wax was completely removed. To return the water to the samples, the glass slides were placed in a Coplin jar containing ethyl alcohol in descending concentrations, from absolute to alcohol. With a concentration of 50% and my agency (100 - 95 - 90 - 80 - 70 - 50)% and for a period of 15 minutes for each concentration.

9. Staining process: After that, the slides were transferred to a Coblen laboratory containing the safranin dye (prepared by dissolving 1 g of the dye in 100 ml of ethyl alcohol, concentration 70%), and the slides were left in the stain for 30-60 minutes. In order to remove the excess

dye, the slides were transferred to a Coplin tester containing ethyl alcohol at a concentration of 50%, then placed in fast green dye (prepared by dissolving one gram of dye in 100 ml of absolute ethyl alcohol) for 15 seconds, then washed thoroughly with absolute alcohol and then passed with xylene three times in succession for 5 minutes each time, then left for 5 minutes to dry.

10. Mounting process: DPX (Distrene Plasticizer Xylene) was used by placing a drop of it on the slide and placing the cover of the slide gently. It was transferred to a hot plate at a temperature of 60 C for several hours, after which it became ready for examination.

خطوات تشريح النسيج النباتي

1. عملية التثبيت Fixation : لتشريح العينة النباتية توخذ قطعة صغيرة منها وتوضع في المحلول المثبت Formaline Aceto Alcohol(FAA) لغرض حفظ هذه النماذج وتثبيتها ويتكون كل 100 مل من هذا المحلول من 90 مل من الكحول الاثيلي تركيز 70% و 5 مل من حامض الخليك الثلجي و 5 مل من الفورمالين، تركت النماذج في المحلول لمدة 24-48 ساعة.
2. عملية الغسل والحفظ Washing and Preservation: غسلت بالكحول الاثيلي تركيز 70% مرتين احداهما لمدة ساعة والأخرى لمدة 18 ساعة وذلك للتخلص من اثار المحلول المثبت، وهنا يمكن حفظ العينات لفترات طويلة بالكحول الاثيلي تركيز 70% او الاستمرار بالعمل.

3. عملية الانكاز Dehydration: مررت الأجزاء المقطوعة بسلسلة متصاعدة من الكحول الاثيلي (70 – 80 – 90 – 95) % لمدة ساعة في كل منها ثم وضعت في كحول اثيلي مطلق 100% لمدة ليلة كاملة.
4. عملية الترويق Clearing: وضعت النماذج في مزيج مكون من كحول اثيلي مطلق وزايلين بنسب 1:3 و 1:1 و 3:1 و زايلين نقي لمدة 30 دقيقة في كل منها.
5. عملية التشريب Infiltration: بعدها نقلت الى خليط (حجم الى حجم) من الزايلين وشمع البرافين في فرن بدرجة حرارة 60م لمدة 4 ساعات، ثم في شمع البرافين لمدة ليلة كاملة وبدرجة الحرارة نفسها.
6. عملية الطمر Embedding: صب بارافين نقي بنفس درجة الحرارة في مكعبات معدنية ووضغت فيها العينات وعلمت وتركت لتبرد تحت الماء الجاري لمدة ليلة كاملة لتصبح جاهزة للتقطيع.
7. عملية القطع Cutting: هيئت القوالب الحاوية على النماذج بشكل مكعبات منظمة تحتوي على النموذج في مركزها وتم تثبيت القالب في المكان المخصص له في جهاز التقطيع الدقيق (Microtome) MSE، وأجريت عملية التقطيع الدقيق بسمك 10–15 مايكروميتر للشريحة الواحدة، تم ترتيب الأشرطة المتكونة من عملية التقطيع حسب التسلسل وجرى تقطيع هذه الأشرطة الى قطع بطول 5 سم.
8. عملية لصق الشريط Affixing the Ribbon : ولغرض تثبيت المقاطع على الشرائح الزجاجية، وضعت قطرة من زلال ماير (Myers albumin)على الشريحة الزجاجية وجرى توزيعها بشكل جيد على الشريحة من خلال مسحها باصبع اليد، وضعت بضع قطرات من الماء المقطر فوق طبقة الزلال ونقلت الأشرطة الى الشريحة لتطفو فوق

طبقة الماء، ووضعت الشرائح على صفيحة حارة (Hot plate) بدرجة حرارة 35 م وجرى تنظيم الأشرطة على سطح الشريحة، وتركت الشرائح الزجاجية على الصفيحة الحارة لحين تبخر الماء تماما والتصاق المناذج على الشرائح.

لغرض التخلص من الشمع تم وضع الشرائح في مخبار كوبلن Coplin jar مملوء بالزايلين لمدة ساعة حيث كررت هذه العملية ثلاث مرات للتاكد من إزالة الشمع تماما، ولاعادة الماء الى النماذج وضعت الشرائح الزجاجية في مخبار كوبلن يحتوي على كحول اثيلي بتراكيز تنازلية ابتداء من الكحول المطلق وحتى الكحول ذي التركيز 50% وكالاتي (100 – 95– 90– 80–70–50)% ولمدة 15 دقيقة لكل تركيز.

9. عملية التصبيغStaining : بعد ذلك جرى نقل الشرائح الى مخبار كوبلن يحتوي على صبغة السفرانين (المحضر باذابة 1 غم من الصبغة في 100 مل من الكحول الاثيلي تركيز 70%) وتركت الشرائح في الصبغة لمدة 30–60 دقيقة. ولاجل إزالة الصبغة الزائدة نقلت الشرائح الى مخبار كوبلن يحتوي على كحول اثيلي بتركيز 50% ثم وضعت في صبغة الأخضر السريع Fast green(المحضرة باذابة غرام واحد من الصبغة في 100 مل من الكحول الاثيلي المطلق) لمدة 15 ثانية، غسلت بعدها جيدا بالكحول المطلق ثم مررت بالزايلين ثلاث مرات متتالية مدة 5 دقائق في كل مرة ثم تركت 5 دقائق لتجف.

10. عملية التحميل Mounting: استخدمت مادة DPX (Distrene Plasticizer Xylene) بوضع قطرة منها على الشريحة ووضع غطاء الشريحة برفق ونقلت الى صفيحة ساخنة بدرجة حرارة 60م لعدة ساعات، أصبحت بعدها جاهزة للفحص.