

المختبر الخامس

حفظ وتحميل الحلم المؤقت والدائم:-

هنالك العديد من أنواع الحلم في العالم وهي تصيب نباتات مختلفة ، كما ان بعض أنواع الحلم تتشابه فيمل بينها لذا لا بد من تشخيصها وذلك بحفظها على شرائح لغرض فحصها تحت المجهر لغرض التمييز بينها . لذا يجب جمع كلا الجنسين ، وقد تظهر ذكور الحلم الأحمر في الغالب وهي مشابهة للأدوار الحورية ، فهي صغيرة اسطوانية وخضراء اللون ، يجب ان تضم مجموعة الفحص كافة أفراد الحلم وبكل الأحجام والأشكال وجب جمع اكبر عدد ممكن من النماذج اذ يوجد احتمال وجود نوعين من الحلم تصيب نبات واحد .

يستعمل الكحول بتركيز 50 – 80% لحفظ النماذج ويجب اخذ المعلومات عن النبات العائل ، المنطقة ، وضع أفراد الحلم على الورقة ، النسيج الحريري ، لون الأنثى ، ومستوى الضرر .

تؤخذ عادة أفراد الحلم من الأوراق المصابة وتوضع في أنابيب زجاجية صغيرة الحجم لغرض تشخيصها . يمكن ان توضع الأوراق المصابة بشدة بالكحول دون رفع الأفراد منها . كذلك يجب جلب الأوراق والأغصان المصابة الى المختبر لغرض فحصها ويتم وضعها داخل أكياس بلاستيكية أو ورقية لحفظها من الجفاف .

تحضير الحلم للفحص :-

يمكن فحص المواد المجموعة مباشرة تحت مجهر تشريح بوضوح أو عزل الحلم من الأوراق وذلك بوضع الأوراق المصابة في قمع برليز المحور أو تضرب في اناء تصوير ضحل ويتم فحصها تحت المجهر . قد لا تمر أنواع الحلم الصغيرة مثل أنواع عائلة Tydeidae من خلال القمع لأنها تختبئ تحت بقايا كتلة المواد المجموعة ، لذا فان الملاحظة المباشرة لجمع هذه الأنواع من الحلم الدقيق .

كما يمكن جمع حلم النبات بضرب الأوراق والأغصان والفروع خلال منخل بذور رقم عينة (20مش) اذ يوضع قمع بلاستيكي تحت المنخل ويوضع أنبوب زجاجي حول رقبة القمع ، بعد جمع الحلم في الأنبوب الزجاجي يضاف الكحول او مادة AGA ثم توضع ورقة عليها معلومات الجمع في داخل الأنبوب ثم تغلق فتحة الأنبوب بالفلين ويؤخذ الى المختبر لغرض الفحص . كما يجب حفظ ورقة او غصن او نموذج من أزهار النبات المصاب لغرض التشخيص . يمكن جمع أعداد كبيرة من النماذج باستعمال هذه الطريقة . كما وان عزل وتحضير الشرائح يتم براحة ويأخذ الوقت الملائم ومع هذا لا يمكن تحديد لون وطباع الحلم الحي مقارنة فحص الأفراد الحية تحت المجهر .

ان محلول AGA يمنع الحلم من التصلب ويمكن وضع الأفراد كما هو مرغوب على الشريحة بعد حفظها بهذا المحلول لمدة طويلة .

يتكون محلول AGA من الآتي :-

1) ثمانية أجزاء من كحول ايثيلي او ايزوبروبيل 70% Ethyl alcohol or Isopropyl .

2) جزء واحد من حامض الخليك المركز Glacial acetic acid .

3) جزء واحد كليسيرين Glycerine .

يمكن اضافة 300 غم سوربيتول / غالون من المحلول أعلاه .

مادة تصبير وتحضير الشريحة :-

من الأفضل تصبير حلم النبات في محلول هوير المحور و المكون من الأتي :-

1) 200غم كلورال هادريت .

2) 200غم كليسيرين .

3) 30غم صمغ عربي .

4) 40مل ماء مقطر .

يجب وضع اناث الحلم الأحمر على شريحة بشكل مسطح ، الظهر الى الأعلى والأرجل متفرقة هذا الوضع يسهل دراسة التخطيط على السطح الظهري والسطح البطني وشويكات الأرجل ولغرض تصنيف الأجناس والأنواع يجب تصبير الحلم بوضع جانبي لمشاهدة المخالب الرسخية والوسادات الوسطى المهمة لتمييز بين الأجناس والأنواع .

كما يجب تصبير ذكور الحلم الأحمر بوضع جانبي لان شكل القضيب مهم في التشخيص .قد تكون هناك بعض الصعوبات أثناء التصبير لان الحلم قد تتحرك وتنطوي عندما تسخن الشريحة ، توضع أغطية الشريحة (caver) على محلول هوير وتسخن الشريحة ببطء حتى تبدأ الفقاعات بالظهور من المحلول ، يمدد التسخين أطراف النموذج ويفتح لونه . كما يجب فحص النموذج قبل وضع الشريحة في الفرن المجفف وذلك لعديل النماذج اذ لم تكن موضوعة بشكل جيد وذلك بتحريك غطاء الشريحة باعتناء ثم توضع في فرن على درجة حرارة (45-50) م لمدة 24 ساعة .

وتبقى الشريحة بوضع سطحي حتى يجف محلول هوير . يجب التأكد من جفاف النموذج تماما قبل ارسالها الى المختصين لتشخيصها .

كما ان هناك بعض الصعوبات في ديمومة الشرائح المحضرة بمحلول هوير ، مثلا وضع مواد حول حواف غطاء الشريحة يساعد على تثبيتها بوضع أحسن وتقليل كمية ماء المحلول الى 20% لتقليل مشكلة التبخر .

