قســـم الوراثـــة

مادة حفظ الأصول الوراثية

إعداد

أعضاء هيئة التدريس بقسم الوراثة

الإسم :

الشعبة:

الموضوعات العملية لمقرر حفظ الاصول الوراثية

استمارة (1)

جدول توزيع موضوعات الدروس العملية على أسابيع الفصل الدراسي المقرر في مرحلة البكالوريوس .

اسم المقرر : حفظ الاصول الوراثية **رقم المقرر** : (ورث .....) **الفصل الدراسي** : الثانى

المستوى والبرامج: الرابع/ برنامج التكنولوجيا الحيوية

لجنة التدريس: **ا.د/ محمود عبد الحفيظ – د/لمياء مصطفي كمال – ا.مني مغازي – ا.هبه حسن**

الهدف من دراسة المقرر: التأكد أن الطلبة تستطيع استنباط المعلومات الخاصة ب.....

الأسبوع	الموضـــــــــــــوع	التاريخ
الاول	مقدمة عن حفظ الاصول وتقنيات حفظ لااصول الوراثية	
الثانى	قانون هاردي ووانبرج لتحديد التكرارات الجينية في المجتمعات	
الثالث	التقنيات الجزيئية المستخدمة لقياس او تقييم التنوع الحيوي مابين الانواع بـ RAPD	
الرابع	المعشبة النباتية "اصنعها بنفسك"	
الخامس	المعشبة الحيوانية "اصنعها بنفسك"	
السادس	المعشبة الفطرية "اصنعها بنفسك"	
السابع	المعشبة الحشرية "اصنعها بنفسك"	
الثامن	الحفظ المعملي للاصول الوراثية بواسطة زراعة الانسجة	
التاسع		
العاشر		
الحادى عشر		
الثانى عشر		

الكتب الدراسية و المراجع :-

مواعيد الحصص العملية يوم الثلاثاء من 3-5

مواعيد الامتحانات خلال الفصل الدراسي :

امتحانات أعمال السنة الأسبوع /

امتحان الشفهي الأسبوع / الثالث عشر مع الإمتحان العملي

طرق تقييم أخرى و مواعيدها (إن وجدت):- موعد الامتحان النظري يحدد من قبل إدارة الكلية طبقا للجدول العام للامتحانات .

الدرس العملي الاول
مقدمة عن حفظ الأصول وتقنيات
حفظ الأصول الوراثية

الاهداف العامة

هو تعريف الطالب علي القيمة المباشرة للنبات في حياة الانسان وذلك من خلال التنوع البيولوجي الذي يخدم الانسان وماهي اهمية المحافظة عليها وعمل حفظ للاصول الوراثية.

الاهداف الخاصة

ان يتعرف الطالب على بعض التقنيات المستخدمة فى الحفاظ علي الاصول الوراثية.

- **ما هو التنوع البيولوجي؟**

إن التنوع البيولوجي هو الذي يدعم الحياة على كوكب الأرض، ويعني التنوع الموجود في الكائنات الحية والذي يتراوح بين التركيب الجيني للنباتات والحيوانات وبين التنوع البيئي.

- **ماذا يعني التنوع البيولوجي بالنسبة إلى صحة الإنسان؟**

إن البشر يعتمدون على التنوع البيولوجي في حياتهم اليومية على نحو لا يكون واضحاً ولا ملحوظاً بصورة دائمة. فصحة الإنسان تعتمد اعتماداً جذرياً على منتجات وخدمات النظام الإيكولوجي (كتوافر المياه العذبة والغذاء ومصادر الوقود) وهي منتجات وخدمات لا غنى عنها لتمتع الإنسان بالصحة الجيدة ولسبل العيش المنتجة. وخسارة التنوع البيولوجي يمكن أن تكون لها آثار هامة ومباشرة على صحة الإنسان إذا أصبحت خدمات النُظم الإيكولوجية غير كافية لتلبية الاحتياجات الاجتماعية. وللتغيرات الطارئة على خدمات النُظم الإيكولوجية تأثير غير مباشر على سبل العيش والدخل والهجرة المحلية وقد تتسبب أحياناً في الصراع السياسي.

وبالإضافة إلى ذلك فإن التنوع الفيزيائي البيولوجي للكائنات المجهرية والنباتات والحيوانات يتيح معرفة واسعة لها فوائد هامة في العلوم البيولوجية والصحية والصيدلانية. وهناك اكتشافات طبية وصيدلانية هامة تتحقق بفضل تعزيز فهم التنوع البيولوجي على كوكب الأرض. وقد تتسبب خسارة التنوع البيولوجي في الحد من اكتشاف العلاجات المحتملة لكثير من الأمراض والمشاكل الصحية.

يشمل التنوع البيولوجي «الاحيائي» جميع الأنواع النباتية والحيوانية ومواردها الوراثية والنظم الايكولوجية التي تنتمي اليها هذه الانواع، انه باختصار تنوع كافة اشكال الحياة على وجه الأرض سواء كانت على اليابسة او في المياه .ويوفر التنوع البيولوجي للعالم ضمانة للحصول على امدادات متصلة من الاغذية ومن انواع لا حصر لها من المواد الخام التي يستخدمها الانسان في حياته اليومية ولبناء حاضره ومستقبله. ولا يشمل التنوع البيولوجي الأنواع الاحيائية الموجودة في محيط بيئي مائي او على اليابسة في وحدة زمنية محددة فحسب بل يشمل النظم البيئية والوراثية التي جاءت منها هذه الأنواع.

❖ أقسام التنوع البيولوجي

يمكن تقسيم التنوع البيولوجي الى عدة فئات وأهم هذه الفئات:

1- التنوع الوراثي

ويقصد به تنوع الوراثى داخل الأنواع ويشمل ذلك مجاميع متميزة من نفس النوع مثال اعداد كبيرة من انواع القطف وهو نبات مقاوم للجفاف والملوحة، او الاف الانواع من الأرز الموجودة في تايلاند والهند مثلا. وقد يكون التنوع الوراثي داخل المجموعة الواحدة، وهو شديد بين وحيد القرن الهندي ومنخفض عند الفهد الصياد. وإذا كانت قياسات التنوع الوراثي قد طبقت على الأنواع المستأنسة والمدجنة المحتفظ بها في حدائق الحيوان والحدائق النباتية فقد بدأ الانسان بتطبيق نفس التقنيات على الأنواع البرية في مواطنها الاصلية. ويعتبر التنوع الوراثي من اهم منتجات البيئة وعلى كل المقاييس الحيوية والاقتصادية والصحية والاجتماعية، ويمكن قياس انتاجية منطقة معينة بناء على التنوع الوراثي الموجود فيها، ويمكن استنتاج انتاجية نظام بيئي معين من خلال الذخيرة الوراثية الموجودة في هذا النظام فمثلا مجتمع الطيور البرية والدجاج البري مقاوم لمعظم الأمراض وظروف انخفاض وارتفاع درجات الحرارة ونقص الغذاء بينما لا يحتمل نفس النظام الكثير من الامراض اذا كان مربى بشكل قطعان كما في المداجن او مزارع الطيور مثلا. وينظر الاقتصاد البيئي الحديث الى مناطق التنوع الوراثي على انها بنوك وراثية تحوي تلك الموروثات المنتجة وقد بدأ العلماء بتصنيفها منذ بداية هذا القرن.

انواع مختلفة من الارز

القطف

❖ **اذا ما هو التنوع الوراثي؟**

التنوع الوراثي هو عبارة عن مجموعة من الصفات الوراثية، الموجودة في جينات كل الأفراد الموجودة، وفي كل واحد من المخلوقات الموجودة على وجه الأرض بما فيها: النباتات والحيوانات والكائنات الحرية المجهرية. يمكن للصفات الوراثية الجديدة أن تتطور عند مختلف الأفراد عن طريق الطفرات الوراثية ومن خلال الصفات الوراثية الجديدة التي تظهر عن طريق التكاثر عند الأنواع. هذه الصفات الوراثية الجديدة هي التي تمكن الكائن الحي أن يلائم نفسه لبيئته المتغيرة بواسطة عملية الانتقاء الطبيعي.

متي بدء التفكير فى حفظ الاصول الوراثية؟

باستهلاك الألفية الجديدة وما سوف يواكبها من تقنية جديدة ومع القلق المتزيد بسبب زيادة تعداد السكان والإخطار المحدقة بالبيئة بدأ العالم يعي حالة المصادر الوراثية للنباتات خاصة ما يتعلق بالغذاء والمراعي والغابات ومدى احتياج ذلك لاتخاذ إجراءات تنظيمية وتوعية فورية وعاجلة. ومع الوعي المتعلق بمملكة النبات (لكونها تمثل نظام الدعم الحياتي)، فقد تزايد عدد أولئك الناس الذي يتساءلون عن التهديدات التي تحدق بمصادر النبات وما يترتب عليها من تناقص في المصادر النباتية وما يجب عمله لحماية مواطن النباتات وكيف يتحقق للإفراد وأعضاء الجمعيات ومؤسسات صنع القرار أن يساهموا في المحافظة على النبات.

وقد برزت فكرة تجميع وحفظ الاصول النباتية بزراعتها فيما يسمي بالحدائق النباتيه منذ القرن الثامن عشر. أما الان فهناك اهتمام عالمي بتجميع وحفظ الاصول النباتيه لانقراض العديد من الانواع النباتية نتيجة الكوارث الطبيعية واستزراع الغابات.

ولا تتوقف اهمية النباتات المعرضة للاندثار على الناحية الغذائية أو باعتبارها مصدر لكثير من العقاقير الطبية واستغلالها كوقود واخشاب فحسب, بل تعدي الأمر الي تأثيرها على البيئة بصفة عامة. كما يتم ايضا القضاء على الكثير من الانواع النباتية بإحلال أصناف ذات مواصفات تلاءم المتطلبات الحالية.

فقد ساهم استنباط أصناف جديدة عالية الإنتاج في اندثار بعض الاصول النباتية التي يعيبها قلة الإنتاج. وربما تكون تلك الانواع النباتية المعرضة للخطر الفناء هي المصدر الوحيد لجينات ذات قيمة اقتصادية كبيرة لتحسين الإنتاج النباتي بصفة عامة.

يمتلك الوطن العربي الكثير من اصول الانواع النباتية والطرز الوراثية المميزة بالاضافة الي الاعشاب البرية والتي لها اهمية طبية عالمية. لذا يجب حماية وتسجيل تلك الاصول والحفاظ عليها من الأندثار أو النهب من قبل منظمات اخري فقد قامت الدول الصناعية وبعض المنظمات العالمية بالطرق المشروعة وغير المشروعة بجمع تلك الثروات من الدول الفقيرة وحفظها لستغلالها فى المستقبل.

وقد تم وضع استراتجيات من اجل المحافظة على تلك النباتات المهددة بالانقراض منه:

1. المحافظة في المكان الطبيعي In-situ Conservation

تهدف هذه الطريقة للمحافظة على السلالات والأنواع جنبا إلى جنب مع أصولها البرية وتظهر التباينات الوراثية من التهجينات بين السلالات الحديثة والأصول النباتية الطبيعية في المنطقة وفي هذا النوع من طرق الحفظ قد تتعرض بعض السلالات إلى الفقد بسبب الظروف البيئية بالإضافة إلى التكلفة العالية للحفاظ على هذه السلالات منزرعة في الأرض والقيام على خدمتها. وتعتبر من أفضل الاستراتجيات المعمول بها التي تخض لسن قوانين وأنظمة إدارية ومنها تحديد المنطقة المستهدفة التي يتوفر بها الأنواع المراد المحافظة عليها.

2. المحافظة خارج الموطن الأصلي Ex-Situ Conservation

عندما تكون عملية المحافظة علي النباتات صعبة داخل موطنها. تقوم الجهات المسئولة بإنقاذ النباتات المستهدفة من موطنها المهدد وتقديم الحماية لها في مستودعات أو مخازن كان يكون منتزها وطنيا أو محمية للحياة البرية أو حديقة نباتية أو بنك للبذور او

مركز للحفظ بالتبريد وتمتاز هذه الأماكن انها لاتحتاج إلى مساحات كبيرة. وهنا يتم الحفاظ على المصادر الوراثية خارج الموطن الأصلي في صورة بذور أو خلايا أو أعضاء نامية تحت ظروف مناسبة لمدة طويلة كبنك للجينات ويعتبر حفظ المادة الوراثية على صورة بذور أوسع الطرق انتشارا حيث تشغل البذور مساحة صغيرة للتخزين وسهلة النقل.

عيوب هذه الطريقة:

- ❖ فقد حيوية البذور مع طول فترة التخزين والقابلية للإصابة بالأمراض والحشرات.
- ❖ عدم القدرة على حفظ السلالات الممتازة وخاصة الناتجة من التربية الداخلية الناتجة عن طريق التوالد الكبرى.
- ❖ لا يمكن تطبيقها على المحاصيل التي تتكاثر خضريا مثل البطاطس والبطاطا ويندرج تحت هذه الطريقة من الحفظ المعملي.

الحفظ المعملي للأصول الوراثية :

تعتبر طريقة الحفظ المعملي أفضل الطرق للمحافظة على المادة النباتية التي تتكاثر خضريا ، والأنواع ذات البذور وكذلك الأنواع المهندسة وراثيا.

ومن أهم مميزات هذه الطريقة :

1. الحاجة إلى مساحة صغيرة للمحافظة على أعداد كبيرة من النباتات المتكاثرة خضريا .
2. الحفاظ على المادة الوراثية بعيدا عن مصادر الإصابة المرضية والحشرية .
3. الحماية من الظروف المناخية غير المناسبة
4. سهولة الإكثار لانتاج أعداد كبيرة من النباتات عند الحاجة إليها في أي وقت .
5. تقليل العوائق والإضرار التي قد تتسبب بواسطة نظام الحجر الزراعي حيث أن هذه الأنواع موجودة وتنقل تحت ظروف تعقيم وتطهير كاملة .

وسوف نتناول فقط تطبيقات زراعة الخلايا والأنسجة في عملية المحافظة على الأصول الوراثية.

الوسائل المستخدمة فى حفظ الأصول الوراثية Materials Used For Conservation

المواد الوراثية التي تُحفظ في المعمل قد تكون بروتوبلاست معزول – خلايا من مزارع سائلة – مزارع كالوس، قمم مرستيمية ، وحدات تكاثرية في مراحل مختلفة من التكشف ونباتات كاملة

حفظ المادة الوراثية عن طريق إعادة الزراعة Subculture على فترات متقاربة له بعض العيوب منها خطورة فقد هذه المواد نتيجة الخطأ البشري في الحفاظ على هذه الأنسجة داخل المعمل أو تعرضها لمسببات الأمراض . أيضا عدم الثبات الوراثي والذي يظهر كنتيجة لتكرار الزراعة وظهر هذا العيب بصفة أساسية في الخلايا والأنسجة غير التكشفية (كالوس) وتتراوح التغيرات الوراثية ما بين إضافة أو نقص تتابع جيني . وقد وجد أن المحافظة على المادة الوراثية في صورة نباتات كاملة ومن ثم إكثارها بواسطة استخدام قطع السلاميات (بطاطس) أو التفصيص (موز) يقلل من فرصة التعرض لعدم الثبات الوراثي وهو أحد المتطلبات الأساسية في الحفاظ على الأصول الوراثية أيضا تقليل عملية إعادة الزراعة بأقل صورة ممكنة . وهذا يمكن أن يتم بواسطة عدة طرق منها التخزين البارد وأيضا تحت ضغط جوي منخفض وأكسجين منخفض وأيضا يمكن الحفظ بالتجميد

وعموما لا يمكن حفظ المادة النباتية على درجة الحرارة العادية للنمو لأنها تستمر بنشاطها مما يؤدي لتدهورها ويتم المحافظة عليها إما بتخفيض نشاطها ونموها إلى الحد الأدنى وبذلك يمكن حفظها لمدة قد تصل من عدة شهور إلى سنة أو اثنين أو يتم وقف نموها تماما عن طريق تجميدها بالنيتروجين السائل ومن هنا تنقسم طرق الحفظ المعملي إلى طريقتين حسب مدة الحفظ :

a. حفظ الأنسجة النباتية لمدة قصيرة لمتوسطة (Short to medium term storage)

b. حفظ الأنسجة النباتية لمدة طويلة (Long Term Storage)

❖ حفظ الاصول الوراثية بالوسائل الاتيه:

1. جمع العينات في الأنابيب

تشمل هذه الطريقة على تنظيف العينة من الحشرات ووضع النسيج الحي المزروع للنبات في وسط معقم خاص بالاستنبات قبل نقله لمختبر الاستنبات تمهيدا لمزيد من الاجراءات لحفظة في الانبوب الزجاجي وتعتبر هذه الطريقة مناسبة لبعض انواع النبات التي يتم تضاعفها بالتكاثر اللاتزاوجي ولبعض البذور والاجنة الحساسة التي تنهار سريعا. ولهذه التقنية ميزة إن النباتات المنقولة تخضع بسهولة لانظمة الحجر الصحي مما يوقف امراض كثيرة مثل مرض الفيوزاريوم وامراض اخرى سهلة الانتشار.

2. المعشبات :

تعتبر مرجعاً هاماً في تصنيف الأنواع النباتية غير المعروفة التي هي في نفس الوقت ذات قيمة علمية عالية للخبراء والباحثين العاملين في معرفة الأنواع والأجناس، وكذلك العاملين في أعداد الفلورات المحلية

والعالمية، لذا فإن جمع وإعداد العينات النباتية بطريقة سليمة يجعل الاستفادة منها ممكناً ومتيسراً لتوفير الكثير من المعلومات.

3. طرق تقييم العينات بالواسمات الجزيئية لحفظ الاصل الوراثي:

وتعتبر تقنية مفيدة لتقييم المصادر الوراثية للنبات او الحيوانية المراد حفظها واستخدامها كما تسهل تحليل ومراقبة التنوع الحيوي وتقييم وتحديد ميزات وخصائص المورثات التي تم جمعها وكذلك تقييم التنوع في المجموعات النباتية المتوفرة.

4. طرق تقييم العينات بواسطة حساب التكرارات الاليلية والجينية داخل العشيرة لحفظ الاصل الوراثي

التدريب العملي الاول

مادة حفظ الاصول الوراثية
(ورث 416)
شعبة البيوتكنولوجي
تقييم تقرير التنوع البيولوجي لبعض الكائنات
(1)

قسم الوراثـــــة

اسس التقييم للبحث الاول عن التنوع البيولوجي لبعض الكائنات:

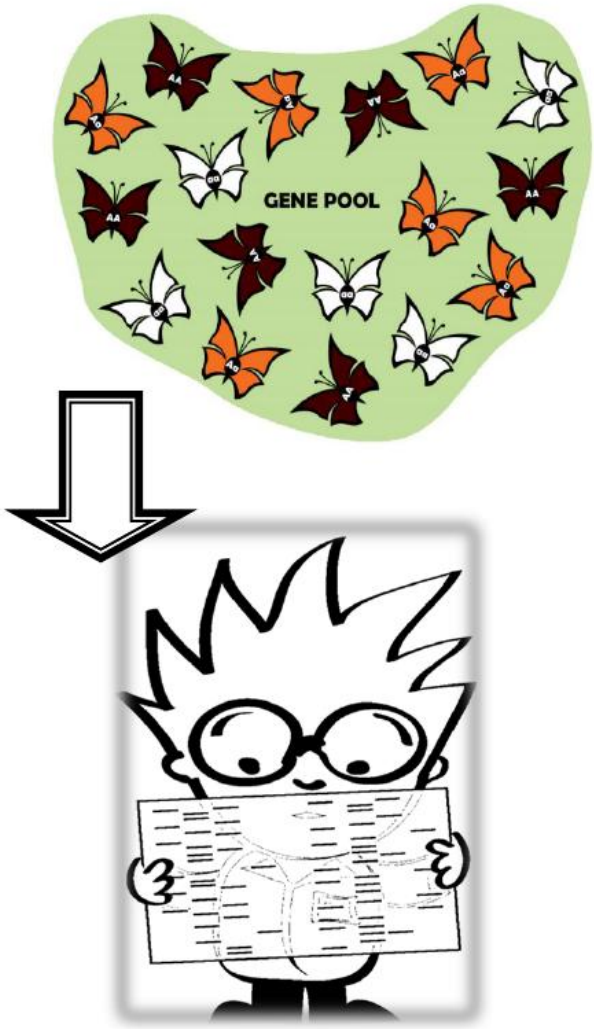
رقـــــم المجموعة	اسم المجموعة	البيئة	التنـــــوع الوراثى	التنـــــوع الانواع	الالقاء	تقيـــيم العرض
.1						
.2						
المجموع =						

*****اضف رمز A=2, B= 1, C=0**

لكل عنصر من العناصر المقام عليها التقييم علي حسب النقاط المذكورة

1. **البيئة : درجة الحرارة – التغذية – مكان المعيشة**
2. **التنوع الوراثى : الشكل المظهرى – الاختلاف على المستوى الكروموسومات**
3. **التنوع الانواع (على مستوى الكائنات للعشيرة richness – evenness)**
4. **الالقاء امام والالتزام بالوقت**
5. **العرض التقديمي**

اولاً: التقنيات الوراثية لتحديد التكرار الجيني داخل العشيرة ولتقييم وقياس الاصول الوراثية قبل حفظها



الدرس العملي الثاني
قانون هاردي – ووانبرج
تحديد التكرارات الجينية في المجتمعات

الاهداف العامة

هو تعريف الطالب علي القيمة المباشرة للنبات في حياة الانسان وذلك من خلال التنوع البيولوجي الذي يخدم الانسان وماهي اهمية المحافظة عليها وعمل حفظ للاصول الوراثية.

الاهداف الخاصة

- ان يتعرف الطالب على :

حساب التكرارات الجينية (الاليليه) لعينة من مجتمع يحتوي علي التراكيب الوراثية AA, Aa, aa والتي لكل منها شكلاً ظاهرياً مميزاً.

- تحديد ما إذا كانت عينة المجتمع التي تتكون من التراكيب الوراثية AA, Aa, aa ذات الشكل الظاهري المميز تمثل مجتمعاً في حالة إتزان هادري – واينبرج.
- حساب التكرارات الأليلات A,a عندما يكون هناك سيادة تامة (أي أن الشكل الظاهري للتركيب الوراثي Aa = AA) بمعلومية تكرار الأفراد ذات التركيب (A-, aa) في عينة مجتمع معين.

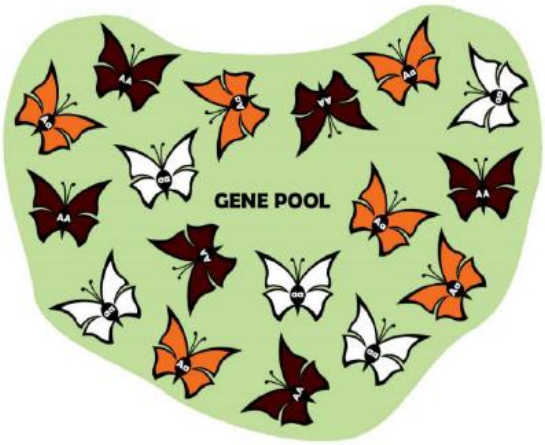
التنوع الوراثي:

هو عبارة عن مجموعة من الصفات الوراثية، الموجودة في جينات كل الأفراد الموجودة، وفي كل واحد من المخلوقات الموجودة على وجه الأرض بما فيها: النباتات والحيوانات والكائنات الحرية المجهرية. يمكن للصفات الوراثية الجديدة أن تتطور عند مختلف الأفراد عن طريق الطفرات الوراثية ومن خلال الصفات الوراثية الجديدة التي تظهر عن طريق التكاثر عند الأنواع. هذه الصفات الوراثية الجديدة هي التي تمكن الكائن الحي أن يلائم نفسه لبيئته المتغيرة بواسطة عملية الانتقاء الطبيعي. **حيث يطلق اسم "العشيرة"** على الكائنات الحية التي تعيش مع بعضها البعض في وحدة جغرافية محددة والتي تتكاثر مع بعضها البعض والتي تتزاوج فيما بينها جنسياً متقاسمة مستودع جيني مشترك.. **مثال على ذلك:** عشيرة الغزلان التي تعيش في محمية عين جدي، أو عشيرة النسور التي تعيش في محمية "جملا" في الجولان وغيرها. يتواجد التنوع الوراثي عند الأفراد في عشيرة معينة لنوع معين سواءا داخل العشائر التي

تعيش بجوار بعضها البعض أو في عشائر تعيش بعيدة عن بعضها البعض من الناحية الجغرافية. لكل عشيرة هناك تركيبة خاصة من الاليلات والتي تنبع من ملائمة أفراد العشيرة نفسها للظروف البيئية المتغيرة.

المستودع الجيني: عبارة عن كل المعلومات الوراثية التي تملكها الأفراد المتكاثرة في عشيرة من الكائنات التي تتزاوج جنسياً. وتوجد علاقة ديناميكية في مستودع الجينات بين الأليلات وبعضها ومع الأليلات والبيئة التي تعيش فيها هذه الكائنات وتؤدي العوامل البيئة (الطفرات – الإنتخاب- الهجره- .....إلخ) إلي التغيير.

التكرار الجيني: مدي تكرار وجود جين معين في عشيرة ما. وتستعمل الرموز الهجائية للتعبير عن التكرارات الجينية حيث يعبر p عن حدوث الحدث و q عن عدم حدوث الحدث. وبالتالي فإن الرمز **p** يعبر عن ظهور الأليل السائد A والرمز **q** يعبر عن ظهور الأليل الآخر المتنحي a. وبما أن مجموعة الأحتمالات الممكنة لحدوث حدث ما هو الواحد الصحيح وبالتالي إذا تتبعنا أليلين فقط لموقع وراثي واحد فإن:



صورة (14):تنوع التكرارات الجينية داخل العشيرة

أي أن: $\mathbf{p + q = 1}$

وبالتالي فإن:

$$\mathbf{A + a = 1}$$

أي أن:

$$\mathbf{(p+q)^2 = (1)^2 = p^2 + 2pq + q^2 = 1}$$

$$\mathbf{(A+a)^2 = (1)^2 = A^2 + 2Aa + a^2 = 1}$$

وفي عام 1908 اكتشف العالم الإنجليزي هاردي والطبيب الألماني واينبرج كل علي حده مبدأ إتزان هاردي – واينبرج والذي ينص علي أنه عند الإتزان تظل التكرارات الأليلية وتكرارات التراكيب الوراثية ثابتة من جيل إلي آخر.

التكرار الجيني في حالة وراثة السيادة التعادلية:-

بما أن في هذه الحالة نجد أن كل من الأليلين التعبير عن نفسهما في الأفراد الخليطة حيث يتم التمييز بين التراكيب السائدة الأصيلة والخليطة والمتنحية وبالتالي يمكن حساب التكرار الأليلي من خلال:

P(A)= **(Number of AA + 1/2 Number of Aa) / Total number**

q(a)= **(Number of aa + 1/2 Number of Aa) / Total number or**

q(a)= **1- p (A)**

التكرار الجيني في حالة وراثة السيادة التامة:-

في هذه الحالة نجد أن الأليل السائد يسود في تعبيره علي الأليل المتنحي وبالتالي لا نستطيع التمييز بين التراكيب السائدة الأصيلة والخليطة وبالتالي يتم حساب التكرار الألييلي من خلال:

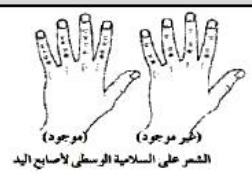
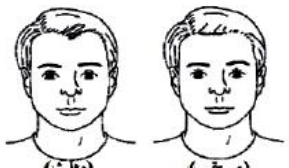
$q^2(aa)$= **Number of aa / Total number**

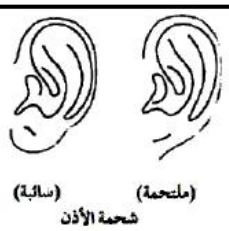
q(a) = **$\sqrt{q^2}$ (aa)** **then p (A) =1- q(a)**

p^2 (AA) = **$P(A)^2$ & 2pq(Aa) = 2 X p(A) X q(a)**

تطبيق علي الوراثة البشرية:

بعض الصفات البشرية و طرق سيادتها في المجتمع وهل منها صفات حافظت علي استمراريتها ام حدث لها انقراض.

الصفة	السيادة	الصورة
شعر عقلة الأصبع الوسطي	وجود الشعر سائد علي عدم وجوده	 الشعر على السلامية الوسطى لأصابع اليد
لف اللسان	مقدرة اللف سائد علي عدم المقدرة	القدرة على لف اللسان
مقدمة الشعر من الجبهة	انبات الشعر من الجبهة سائد علي انباتة من خط واحد	 منبت شعر الرأس

الأذن الملتصقة	الأذن غير الملتحمة سائدة علي الملتحمة 
انحناء الإبهام	عدم استطاعة ثني الإبهام اكثر من 45° سائد علي استطاعة الثنى
طول الأصابع	صفة متأثرة بالجنس، في الذكور أصبع السبابة القصير سائد

تطبيق حساب التكرار الجيني علي الصفات الوراثية فى الانسان:

هدف هذا التطبيق: هل يمكنك تحديد أكثر الصفات عمومية وانتشاراً في الإنسان؟

1. اختار صفة من الصفات السابق ذكرها بحيث يتم حسب التكرار الجيني لها من حيث تطبيق هذا التمرين علي الطلبة في القاعة الدراسية؟

الصفة	***عدد الافراد التي تظهر عليهم الصفة***	***عدد الافراد التي لا تظهر عليهم الصفة***	***العدد الكلي للمجموعة***
لف اللسان (صفة سائدة)			
إنحناء الابهام (صفة سائدة)			

2. اي الصفات التي دراستها أكثر عمومية وأكثر إنتشاراً؟

.....

المراجع

https://www.pathwayz.org/Tree/Plain/GENE+POOLS+%26+ALLELE+FREQUENCY

التدريب العملي الثاني

1. في الأغنام لون الصوف الأبيض يعتمد علي وجود العامل السائد B بينما اللون الأسود يرجع إلي العامل المتنحي b. في عشيرة من 900 خروف وجد الآتي: 891 أبيض و 9 أسود. أحسب التكرار الجيني لهذين العاملين. ماهي الخطوات اللازمة للحفاظ علي سلالة الخراف المنتجة للصوف ذو اللون الاسود؟

2. في ماشية الشورتهورن- التركيب الوراثي C^RC^R يعطي اللون الأحمر للجسم C^WC^W للون الأبيض وC^RC^W للون الطوبي. فإذا افترضنا أن عشيرة من هذه الماشية محتوية علي الأعداد التالية: 108 أحمر، 144طوبي، 48 أبيض. أحسب تكرار العامل C^W, C^R في هذه العشيرة؟

3. عندما أختبرت عينات الدم من 999 طالب لمجموعة الدم Rh وجد أن 74.9% كانت موجبة، 25.1% سالبة، فإذا فرضنا زوجا واحدا من الأليلات R, r يتحكم في هذه الصفة ما هو التكرار الجيني.

الدرس العملي الثالث
التقنيات الجزيئية المستخدمة لقياس او تقييم التنوع الحيوي ما بين الأنواع للعينات بـ "RAPD"

الاهداف العامة

هو تعريف الطالب علي القيمة المباشرة للنبات في حياة الانسان وذلك من خلال التنوع البيولوجي الذي يخدم الانسان وماهي اهمية المحافظة عليها وعمل حفظ للاصول الوراثية.

الاهداف الخاصة

ان يتعرف الطالب على :

- تعريف هذه التقنية
- تطبيق اختبار (RAPD)
- كيفية اجرائها

تقنيات لتقييم حفظ الأصول الوراثية

على الرغم من أهمية التوصيف المورفولوجي لدراسة التباينات بين الطرز النباتية إلا أنه يعد عملية صعبة خاصة في النباتات المتشابهة في الشكل الخارجي، ويحتاج إلى وقت طويل ويتأثر بدرجة كبيرة في الظروف البيئية، لذلك توجهت الأنظار إلى دراسة الاختلافات الوراثية على مستوى (DNA) التي يمكن من خلالها كشف الاختلافات الوراثية كلها (البحر وزملاؤه، 1999). وقد تمكنWilliams وزملاؤه (1990) من تطوير تقنية RAPD المعتمدة على التضخيم العشوائي لأجزاء من الدنا باستخدام جهاز تفاعل البلمرة المتسلسل PCR التي تستخدم بشكل واسع في مجال البيولوجيا الجزيئية التي يعد استخدامها ضروريا في إدارة وحفظ الأصول الوراثية بهدف حفظ المادة الوراثية للأنواع النباتية (Hormaza وزملاؤه 1978). وتعد تقنية RAPD إحدى التقنيات المتميزة بسرعتها وانخفاض كلفتها عند دراسة العلاقات الوراثية وانتقاء الأصناف المرغوب فيها، إذ تستخدم في دراسات الخرائط الوراثية، ووراثة العشائر، والتقييم الوراثي، وكذلك في برامج تربية الحيوان والنبات (Baradakci، 2001) ويفيد تحديد درجة التشابه الوراثي بين الأنواع وضمنها في برامج تربية النبات، من خلال تقليل عدد المدخلات المستخدمة في التهجين، والاعتماد على الآباء المتباعدة وراثيا التي تؤمن الحصول على قاعدة وراثية كبيرة (Muzher، 2004).

وهناك بعض التقنيات التي تندرج تحت أساليب حفظ الأصول الوراثية وتطبق آليات التقنية الحيوية، ومن هذه التقنيات مايلي :

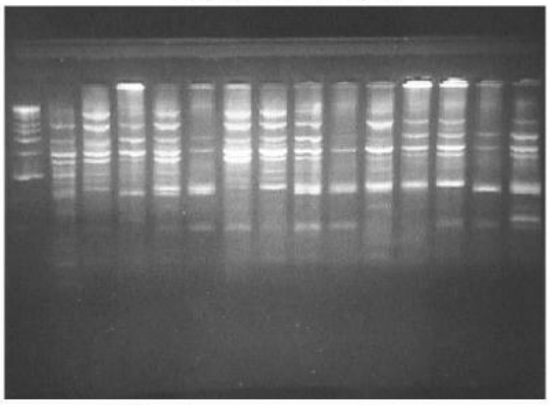
الواسمات (المعلمات) الجزيئية

توفر الواسمات الجزيئية تقنية مفيدة للغاية لتقييم العينات للمحافظة على المصادر الوراثية للنبات واستخدامها، كما تسهل تحليل ومراقبة التنوع الحيوي، وتقييم وتحديد ميزات وخصائص المورثات التي تم جمعها، وكذلك تقييم التنوع في المجموعات النباتية المتوفرة، ومن المزايا الأخرى لهذه التقنية أنها :-

1. تمثل فرصة لا مثيل لها لتوفير المعلومات حول التنوع الذي يوجد لبعض الأنواع الخاصة ضمن الأقاليم المحلية وبين البلدان، وكذلك حدود الثبات الوراثي للأجيال المنتجة من الجنس أو النوع الواحد.
2. توفر دقة متناهية وطريقة موضوعية في تحديد ماهية تنوع الأصول الوراثية ، ويعد هذا مفيداً على الأخص في نشر المعلومات الدقيقة بين الشبكات الإقليمية والعالمية.

وبشكل تقليدي فإن الواسمات الجزيئية المتعلقة بشكل النبات والإيزوزيمات تم استخدامهما لهذه التقييمات، إلا أن كليهما محدودة ، لذا تأتي أهمية تقنيات الفصل الجزيئي للمورثات مثل (RFLP,RAPD,AFLP,VNTR)، والتي تعد بمثابة ثورة في الوصول إلى الهدف المتضمن مراقبة التنوع الحيوي والوراثي النباتي.

ويوضح شكل (5) تطبيق تقنية (RAPD) على أنواع النخيل بالمملكة للتعرف على مدى التنوع الوراثي ومدى الحاجة الى حفظ بعض الأصول المهمة منها (Al-Khalifah & Askari, 2003).



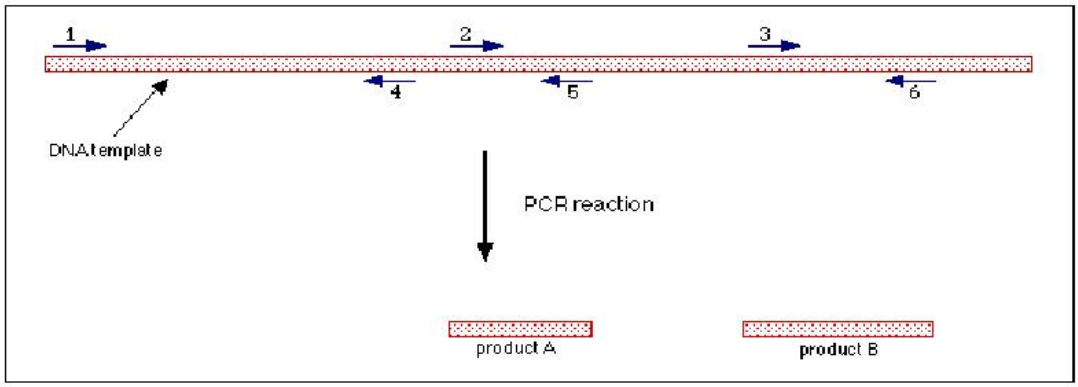
شكل (5) مراقبة التنوع الوراثي بالنخيل

وبداية فإن الواسمات الجزيئية ستكون ذات قيمة عالية في تقدير وتقييم التنوع والاستقرار الوراثي، وبالرغم من هذه الإمكانية، فإن التحديدات الحالية لتقنية الواسمات الجزيئية تتطلب معدات غالية الثمن، وتدريب الأفراد العاملين عليها، وبذل جهد كبير في البحث لتوفير إمكانية تطبيقات واسعة لمدى معين من الأنواع.

تعريف بالتقنية Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD):

هي تقنية حديثة نسبياً بدأ العمل بها مطلع التسعينات من القرن المنصرم. تسمح بمسح كامل الهيئة الكرموسومية للكائن عشوائياً للكشف عن أي تغيرات وراثية في معلوماته الوراثية .

- تقنية تعتمد على PCR حيث يتم فيها تضخيم قطعة من DNA لاتمثل جينا (جزء عشوائي من DNA) بحيث تعطى تعدد مظهرى Polymorphism
- ويستخدم من أجل ذلك بادئات عشوائية Random primers حيث يستعمل في هذه التقنية بادئ _Primer_ صنعي (وليس طبيعي) وحيد (وليس مزدوج) مكون من 8-10 نيوكليتيدة (ذات تتابعات عشوائية لكن غالباً ما تحتوي على GC بنسبة 50 % على الأقل)...



خصائص Primers :

- بادئ قصير من 8 إلى 12 قاعدة ،وهو بادئ واحد يعمل على كلا الشريطين
- هذا البادئ ليس متخصصا لعزل جين ما
- نظرا لأن البادئ قصير فيحتمل أن يتواجد التتابع المكمل مرات عديدة على كلا الشريطين وبالتالى يمكن أن يحدث تضخيم وعزل لقطعة من DNA فى المسافة بين إرتباط البادئين.

خطوات الإختبار (RAPD) وكشف النتائج .

1. في البداية ترفع درجة الحرارة إلى (96) درجة مئوية فتبدأ عملية فصل سلسلتي (DNA) عن بعضهما. **(Denaturation)**
2. وبعد زمنٍ محدد تخفّض درجة الحرارة وما إن تصل درجة حرارة الوسط إلى الدرجة التي تلائم التصاق البادئ يبدأ هذا الأخير بعملية الالتصاق **(Primer annealing)** عشوائياً في أي مكان

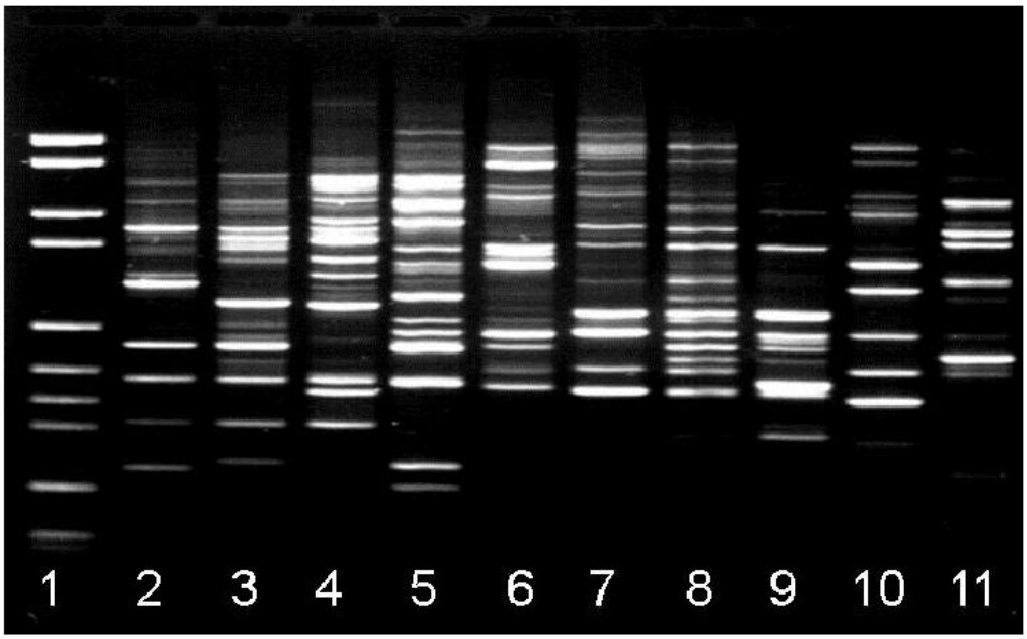
من جينوم الكائن بمجرد تطابق تسلسله النكليوتيدي مع تسلسل نكليوتيدي موجود على سلسلة (DNA)...أي أن عملية التصاق ستتم بشكل عشوائي وليس بشكل انتقائي.

3. ثم تأتي بعد ذلك عملية الاستطالة **(Extension)** لمدة محددة وتنتهي الدورة الأولى لتبدأ الدورة الثانية .

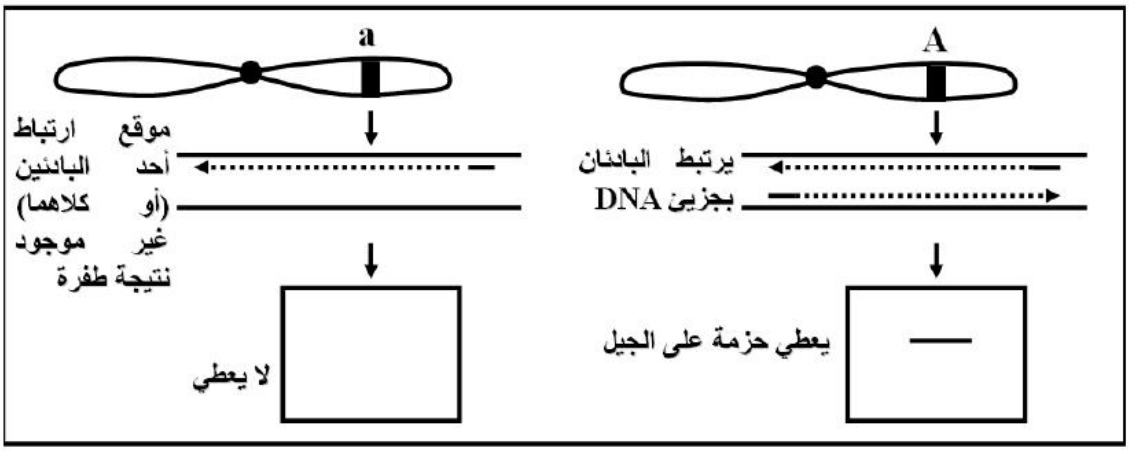
في النهاية يتم تحميل العينة الناتجة في جيل الاجاروز فتنفصل العينة إلى بضع قطع (Bands). الآن نعيد التجربة نفسها بنفس البادئ ونفس الزمن (نستخدم نفس البرنامج في جهاز PCR) لكن مع نبات آخر من نفس النوع و هكذا يمكن المقارنة بين العديد من الانواع فى نفس الوقت مع بادئ واحد للتفرقة بينهم

عدد الحزم الناتجة يتوقف على:

- طول الجينوم فكلما زاد طول الجينوم زاد عدد الحزم المتوقعة
- تتابع القواعد فإذا كان التتابع الخاص بالبادئ موجودا يعطى حزمة
- وإذا كان التتابع الخاص بالبادئ غير موجود لايعطى حزمة وبالتالى يختلف عدد الحزم الناتجة من صنف نباتى لاخر رغم اتفاقهما فى طول الجينوم
- المسافة بين البادئين يجب أن تقل عن 3 كيلوقاعدة
- اتجاه البناء حيث يجب أن يكون إتجاه البناء على كلا الشريطين

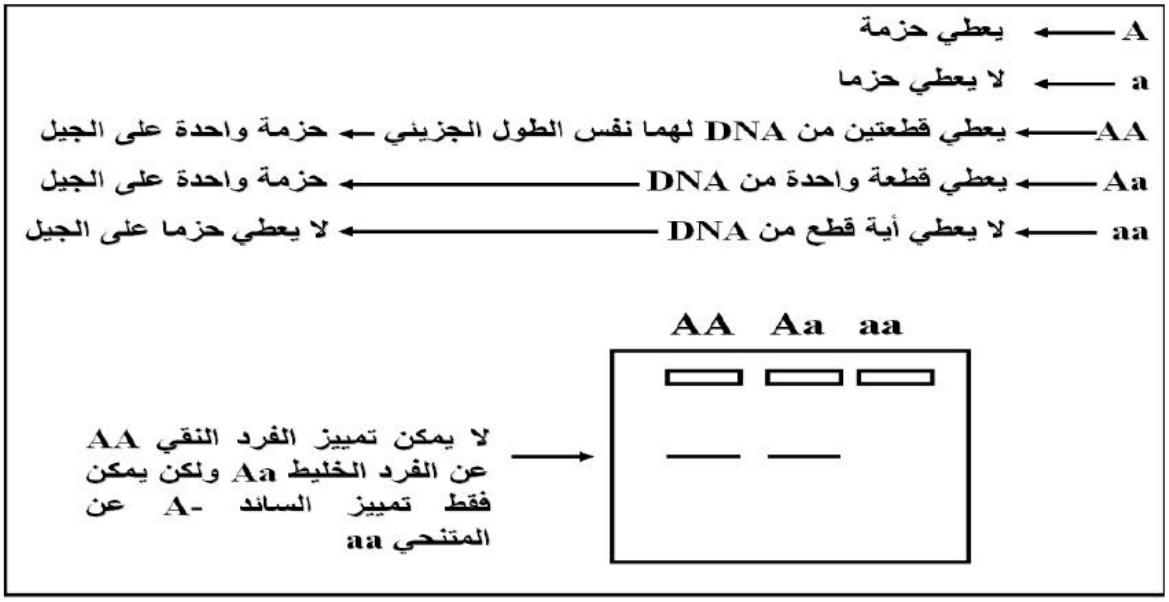


...فإذا لاحظنا أيّ تغير في تواجد القطع الناتجة عن عينة مع القطع الناتجة عن عينة اخري فهذا يدل قطعاً على وجود اختلافات وراثية مابين العينتين وبالتالي يمكننا التنبؤ عن حالة "السيادة والتنحي" في النباتين او العينات محل الدراسة او حالة وجود طفرة من عدمه .



ملخص عن هذه التقنية :

- تقنية RAPD تقنية ذات سيادة Dominant حيث لايمكن تمييز المظهر الوراثى النقى عن الخليط وبالتالي فأننا لا نستطيع الحكم بدقة.
- يعطى الفرد نتيجة موجبة(حزمة) إذا حدث بناء لقطعة DNA بإتحاد قطعتين من البادئ مع قالبى DNA
- يعطى الفرد نتيجة سالبة (عدم إعطاءالحزمة) إذا حدث بناءعلى شريط واحد فقط أو إذا لم يحدث البناء على أى من الشريطين وبالتالى :
- ظهور الحزمة الأليل الأول (السائد) A
- غياب الحزمة الأليل الثانى (المتنحى) a



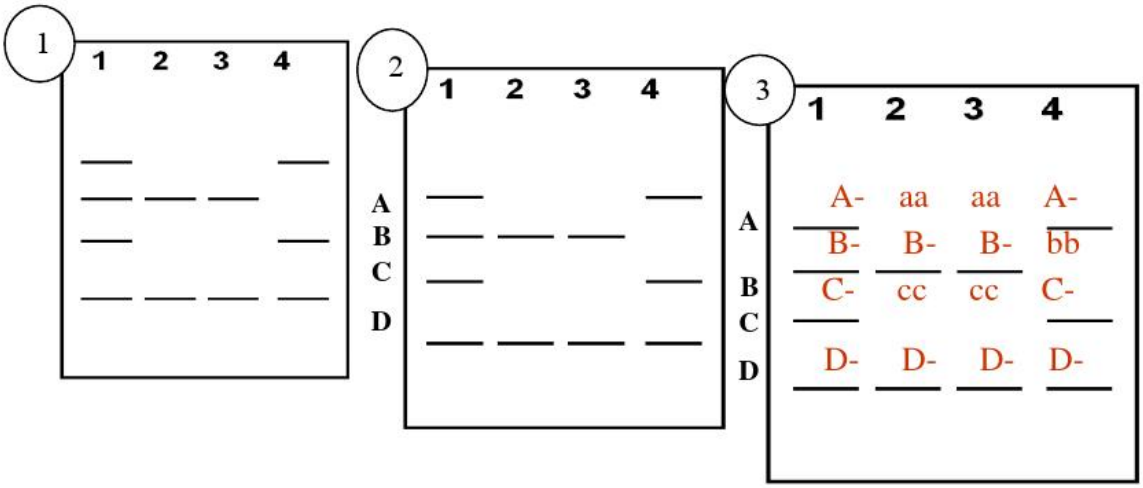
- وبالتالي يكون الفرد النقى السائد AA معطيا نفس الحزمة التى يعطيها الفرد السائد الخليط Aa وبالتالى لايمكن تمييز الفرد السائد النقى عن الفرد الخليط
- وبالتالى يكون التركيب الوراثى للافراد إما سائد -A أو aa

كيفية تحديد وحساب الاختلافات بين الاصناف بواسطة هذه التقنية :

نظرا لوجود أكثر من موقع وراثى (أكثر من حزمة بوزن جزيئى مختلف على الجيل) يكون لكل حزمة بوزن جزيئى مختلف رمز مختلف للتركيب الوراثى كما يتضح من المثال التالى:

1. اكتب التركيب الوراثى لكل عينة مما يلى:

بما أن هناك 4 حزم مختلفة الوزن الجزيئي "إذن هناك 4 مواقع وراثية A, B, C, D"



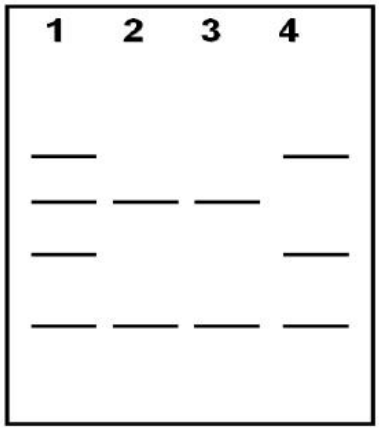
حيث ان هذه التقنية تستخدم لتفرقة بين الانواع ومدي التشابة او الاختلاف بينهم عن طريق حساب نسبة التشابة والاختلاف:

❖ حساب نسبة التشابة = $\frac{\text{عدد الحزم المتماثلة فى جميع العينات}}{\text{عدد الحزم الكلي لجميع العينات}} \times 100$

❖ حساب نسبة الاختلاف = $\frac{\text{عدد الحزم المختلفه فى جميع العينات}}{\text{عدد الحزم الكلي لجميع العينات}} \times 100$

مما سبق نستنتج أن كثافة القطع على جيل الاجاروز غير مهم. إنما تبرز الأهمية في هذه التقنية من وجود أو غياب هذه القطعة (Bands) .

التفرقة بين الحزم Bands:



محاسن وعيوب تقنية (RAPD):

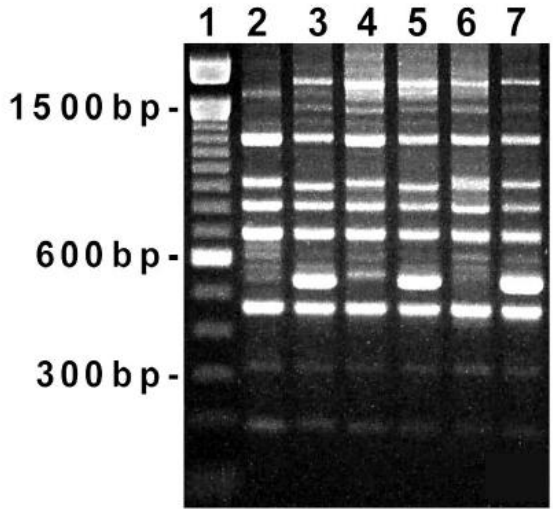
محاسنها ومميزاتها :	عيوبها وسلبياتها :
تطبق على مختلف الأنواع (إنسان ، حيوان ، نبات ، بكتيريا....الخ	تقنية عشوائية .
سهولة تطبقها في أيّ معمل في العالم	- تكشف عن وجود السيادة أو عدم وجودها فقط أي أنها تميز بين النمطين الوراثيين (AA & aa) وتعجز عن التميز بين النمطين (AA & Aa) .
تقنية سريعة وبسيطة لا تحتاج لخبرة كما ان تكاليفها زهيدة	نتائجها غير قابلة للتكرار...أي لا يمكن مقارنة نتائج اختبار (RAPD) لعينة ما وبنفس الشروط في مختبرين اثنين وطبعاً هذا ناتج عن كون هذه التقنية عشوائية

المراجع:

http://www.uidaho.edu/~/media/Files/orgs/Law/law-review/2012-symposium/Trade-wreck-bobo.ashx
http://www.stratec.com/en/molecular/Products_Molecular/Genomic_DNA/Invisorb_Genomic_DNA_Kit_ii/Invisorb_Genomic_Kit_ii.php
http://a9eel2012.wordpress.com/
http://www.damascusuniversity.edu.sy/mag/farm/images/stories/3-2013/131-149.pdf

التدريب العملي الثالث

1. في تجربة فى المعمل للتفرقة بين العديد من الانواع النباتية لاستخدامها فى حفظ هذه الاصول بواسطة تقنية RAPD وبعد التفريد على جيل الاجاروز كانت النتيجة كما هو فى الصورة اذكر بنسبة التشابة والاختلاف بين هذه الا نواع؟



ثانياً: تقينات حفظ الاصول الوراثية عن طريق المعشبات

المعشبة النباتية

المعشبة الحيوانية

معشبة الفطريات

المعشبة الحشرية

الدرس العلمي الرابع
المعشبة النباتية
"اصنعها بنفسك ج1"

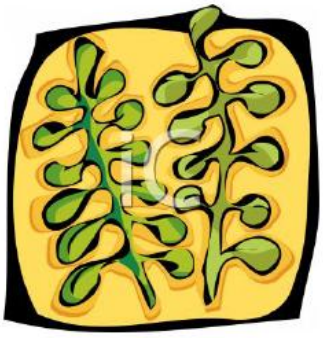
الاهداف العامة

هو تعريف الطالب علي احدي تقنيات حفظ الاصول الوراثية وهي المعشبات.

الاهداف الخاصة

ان يتعرف الطالب على كيف يقوم بعمل نموذج للمعشبة مصغر خلال هذه المادة.

تعريف المعشبة النباتية:



المعشبات هي مجموعة من العينات النباتات المحفوظة. ويمكن أن تكون العينة من اجزاء أو نبات بالكامل. وعادة ما تكون في صورة مجففة ملصوقة على الواح, لكن ذلك يعتمد على نوعية العينة حيث أنها يمكن أن تكون محفوظة في كحول أو أي مادة حافظة أخري.ويستعمل هذا المصطلح أيضا في علم الفطريات لوصف مجموعة الفطريات المحفوظة.

ويمكن أن يشير مصطلح المعشبات إلي المبني الذي يتم فيه تخزين العينات أو إلي المؤسسة العلمية والتي تحتوي أيضا على العينات بالإضافة إلي الأبحاث المتعلقة بها

كيف يمكن تجهيز العينة للحفظ داخل المعشبة :

تمر العينات المعشبة بمراحل إجبارية قبل ان تنتظم في خزائنها التصنيفية, وهذه المراحل في غايتها تهدف إلي الحفظا على شكل العينة النباتية لأطول فترة ممكنه وذلك بإنتزاع العصير الخلوي من العينة أي تجفيفها والحفاظ عليها من العوامل البيئية والاصابات الحشرية, لذا فإن مراحل إعداد العينات المعشبية تأتي حسب الترتيب التالي:

1. مرحلة الجمع
2. مرحلة الحجر والفرز
3. مرحلة الكبس
4. مرحلة التثبيت
5. مرحلة التعريف

1. مرحلة الجمع: Collection Sample

ا. جمع البذور وتنظيفها وتجفيفها

إن طرق جمع البذور تختلف من نبات لآخر ، وذلك نتيجة لاختلاف حمل هذه النباتات لثمارها. لذا فإن عملية جمع البذور تتم يدوياً في بعض الأنواع النباتية وآلياً في أنواع أخرى. فعند جمع البذور يدوياً يجب فرش الأرض تحت النبات بغطاء بلاستيكي ومن ثم تحريك الأغصان والفروع باليد لتسقط البذور فوق الغطاء البلاستيكي تم تجميع البذور. أما إذا كان الحصاد آلياً فيتم بواسطة آلات (مكائن شفط) لها القدرة على فرط البذور وشفطها في خزانات البذور. ويمكن تقليم الأجزاء النباتية التي تحمل البذور الناضجة باستخدام مقص التقليم ومن ثم فرط البذور في المعمل .

تبدأ عملية تنظيف البذور وذلك باستخدام مناخل ميكانيكية أو يدوية ذات فتحات مختلفة الحجم. المناخل التي فتحاتها واسعة لتمرير البذور دون البقايا النباتية الأخرى والحجارة أما المناخل ذوات الفتحات الصغيرة فتستخدم لتنظيف البذور من الأتربة. ويوجد آلات متطورة لعملية فصل البذور حيث تحمل مناخل داخلية ويمر خلال هذه الآلات تيار هوائي يقوم بفصل البذور عن الشوائب والمواد الأخرى .

ويتم تجفيفها هوائياً وذلك عن طريق نشرها على فرش في غرفة خاصة تحت درجات حرارة ورطوبة مناسبة. ويجب تقليب البذور من وقت لآخر تفادياً لحدوث تعفن لها .

ب- اختبارات البذور: ويقصد بها تحديد نسبة الإنبات وحيوية البذور

1. اختبار نسبة الإنبات :

ويقصد بذلك - بزوغ الجذير من خلال غلاف البذرة- والذي من خلاله يتم قبول البذور أو رفضها.لإجراء هذا الاختبار تؤخذ عينة عشوائية وتوزع في أطباق بترية تحتوي على أوراق ترطيب أو قطن. كل طبق بتري يعبر عن مكررة، ونحتاج إلى 5-10 مكررات للقيام بالتحليل الإحصائي. توضع الأطباق البترية في جهاز الإنبات (الحضانات) المتحكم بدرجة الحرارة والرطوبة فيها. يسجل عدد البذور المنبتة يوميا إلى أن توقف عملية الإنبات تماماً. ويحسب نسبة الإنبات على أساس متوسط نسب الإنبات للمكررات:

نسبة الإنبات = (عدد البذور النابتة / عدد البذور الكلي)× 100

ومن عيوب هذا الاختبار أن البذور الكامنة لا تنبت لذا فهو لا يعبر عن مدى الحيوية لدى البذور المفحوصة لأنه لا يظهر نسبة البذور الحية .

2. اختبار نسبة حيوية البذور:

يقصدون بحيوية البذور، قدرتها على الإنبات وإعطاء بادرة طبيعية .

إن اختبار التترازوليم من الطرق الدقيقة شائعة الاستعمال لتقدير حيوية البذور. ويتميز بأنه:

- ❖ اختبار سريع .
- ❖ يمكننا من معرفة حيوية البذور الكامنة .

أساس هذه الاختبار هو التفريق بين الأنسجة الحية والميتة لجنين البذرة بناءاً على المعدل النسبي لتنفس الأنسجة الرطبة. ويعتمد اختبار التترازوليم على نشاط أنزيمات الديهيدروجينيز .

فتتفاعل أنزيمات الديهيدروجينيز مع الأنسجة منتجة أيونات الهيدروجين والتي بدورها تختزل محلول ملح التترازوليم العديم اللون والمتأكسد وتحوله إلى **مركب الفورمزان (Formazan)** المختزل ذو اللون الزهري أو الأحمر، وتقدر حيوية البذرة طبقاً لطبوغرافية نمط التلوين وكثافته في الجنين .

وتعد البذور التي تحولت كلياً أو جزئياً إلى اللون الأحمر والتي تعتبر حية وكذلك تعد البذور التي لم يتغير لون أجنتها والتي تعتبر بذور ميتة ومن ثم تحتسب نسبة حيوية البذور .

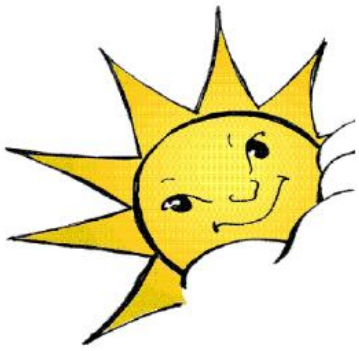
نسبة الحيوية للبذور = (عدد البذور الحية/ عدد البذور الكلي) × 100

3. <u>اختبار درجة نقاوة البذور :</u>

مدى وجود الشوائب والمواد الغريبة مع البذور، ولتقدير النقاوة يوزن مجموعة من العينات العشوائية وتفرز المواد الغربية والشوائب منها بعناية ثم توزن مرة أخرى ونحدد منها نسبة النقاوة.

الشغل العملي لهذه الخطوة:

وهي مرحلة التي يقوم فيها الجامع بالخروج الي البيئة الطبيعيه في جو صحو (غير ممطر او عاصف), حاملا ادواته من:



- دفتر لتسجيل المعلومات
- وعدسات مكبرة وحقائب لجمع العينات
- وجروف ومقص نباتات وما الي ذلك من مستلزمات حقل.
- بالاضافة الي كاميرا حتي يقوم بتصوير بعض العينات النباتيه فى بيئتها الطبيعيه.

وقبل ان تمتد يده ليلتقط العينات, عليه ان يُراعي ان النوع الذي سوف يقوم بجمعه متوفر فى المنطقة وفي اعمار مختلفه حتي تكون العينة التي سيختارها ممثلة قدر الامكان للنبات في مرحلة نموه المختلفه (من اول بادرة الي وصله لنبات بالغ)، بمعنى اشتمالها على كافة اجزاءه من مجموع جذري ومجموع خضري بما في ذلك على اشتمالها على ثمار أو ازهار وياحبذا ان تكون ناضجة (بها بذور) وان تكون خاليه من الامراض او الاصابات الحشرية (تستخدم الاكياس البلاستيك او حقائب من الصاج محكمة الغلق لحفظ العينات من العوامل الجوية لحين الوصول بها الى المعشبة مع كتابة تاريخ ومكان الجمع بالقلم الرصاص على ورقة ترفق بالعينات).

في أثناء تجميع العينات في الحقل لابد من رصد للبيانات التالية:

- تاريخ جمع العينة .
- الاسم الدارج (كما يسميه أبناءالمنطقة).
- المكان (البعد والاتجاه من أشهر مكان معروف).
- الوسط من حيث ملامحه (بركه- كثبان رملية-أرض -حشائش).
- استخدامات هذا النبات (هل هو نبات طبي أم اقتصادي أم زينة).
- ويمكن تسجيل بعض الصفات أثناء الجمع مثل هوية الساق ,
- نوع التربة , وصف النورة , وجود لبن نباتي , وجود رائحة ..الخ.
- درجات التواجد .
- تأخذ العينات المجمعة رقمًا مسلسلاً وتدون البيانات السابقة في كراسة خاصة بالعمل الحقلي تحت نفس رقم العينة .
- يدون اسم الشخص القائم بالجمع .

عينات ذات طراز خاص في التجميع:

1 -العينات العصيرية:

مثل نبات الصبار والذي يتميز بسمك اعضائه واحتواءه على نسبة عالية من الماء، وعينات كهذه يتبع معها مايلي:

أ- تقتل الانسجة سريعا اما بالغمر بالماء الساخن لمدة ثوان أو معاملتها بأحد محاليل الغمر كالكحول او الفورمالين.

ب-يتم نزع الأنسجة الزائدة الداخلية للعضو.

2- العينات الصغيرة:

مثل عدس الماء ويتبع مع العينات الصغيرة الآتي:

أ- يتم تجميعه في مجموعات وليس كعينة فردية.

ب-يتم تجفيفها بواسطة الشمس.

ج- توضع على ورق التحميل داخل مظروف من السيلوفان او البلاستيك الشفاف.

د- يمكن حفظها في احد سوائل الحفظ مثل(الكحول الإيثيلي او الفورمالدهيد او الماء) حتى يمكن بعد ذلك اجراء الدراسات عليها مثل دراسة التركيب التشريحي.

هـ- تحفظ هذه العينات داخل اواني زجاجية ويتم تسجيل البيانات الخاصة بها على رقائق من الخارصين أو صفائح من الصيني وتوضع داخل الإناء ويُغلق بإحكام وتحفظ العينات داخل المعشبة.

3- العينات المائية:

أ- توضع بعد جمعها في اناء مسطح به ماء ويتم فرد العينة في الماء.

ب- توضع بحرص اسفل العينة وهي في الماء قطعة من الورق الأبيض او قماش الميسيلين muslin والموضعة فوق شبكة من السلك وتُرفع العينة المفرودة على الورق.

ج- تسحب الورقة من اسفل العينة برفق شديد وبالتدريج.

د- توضع العينة بعد ذلك على ورق المكبس داخل المكبس مع مراعاة وضع كمية اكبر من ورق التجفيف مقارنة بالحالات العادية.

هـ- يتم تغير ورق المكبس على فترات متقاربة.

و- في حالة العينات التي يستلزم جمعها نزعها بجزء من الصخر الملتصق عليها فهذه يجب ان تحفظ داخل السوائل الحافظة.

4- السراخس:

أ- يتم جمع هذا النوع من العينات بالجزء السفلي لها (الماسك او الريزوم) حيث انها تعتبر صفة تصنيفية هامة

ب- في حالة الأوراق الكبيرة يجب ان يؤخذ معها الجزء السفلي مع الجزء القاعدي ويجب ان يحتوي على البثرات.

5- الأبصال والدرنات:

أ- مثل هذه العينات يجب قتل انسجتها اولا اما باحدى محاليل القتل او بالتسخين اثناء عملية التجفيف مع استمرار تهوية العينات داخل المكابس وذلك لأنها قد تستمر في النمو حتى اثناء عملية الكبس.

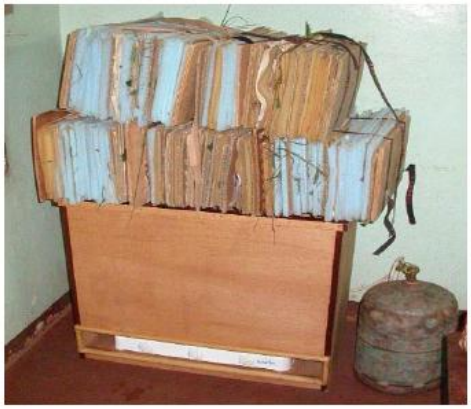
ب- يجب تقليل حجم العينة مع عدم تغيير شكلها الخارجي وذلك بنزع الأنسجة الداخلية للعينة ثم حفظها في سوائل الحفظ أو بالحفظ العادي بعد التجفيف بالمكبس.

وهناك أولويات خاصة للأنواع النباتية التي تجمع البذور منها مرتبة كالتالي :

- النباتات المهددة بالفناء .
- النباتات الفريدة من حيث التطور والتصنيف.
- النباتات التي يراد إعادة استزراعها في المواقع الطبيعية المتدهورة.
- النباتات ذات الأهمية الزراعية أو الطبية أو الصناعية.

2. مرحلة الحجر والفرز:

قبل تفريغ العينات من اكياس الجمع او العلب وقبل ادخالها الي طاولة العمل فى المعشبة توضع فى فريزر تثليج لمدة 24 ساعة لقتل الأفات النباتيه, حيث يتم بعدها فرز العينات لاستبعاد المصاب منها والتاكد من خلوها تمام من اي عوالق غريبة (حشرية – فطرية – ترابة) حتي لا يؤدي ذلك الي انتقال الاصابة لباقي العينات المعشبة, **ويتم غسلها بالماء الجاري (أو نفضها من الاترابة دون الغسل)** وفردها لتجفف فى الهواء, ثم تجمع مره اخري لتصنف فى مجموعات.



3.مرحلة الكبس "ضغط وتتجفيف العينة": Pressing and Drying of Specimen

تعريفها:

هي المرحلة التي يتم فيها انتزاع الجزء الأكبر من الماء الموجود في العينة لتصبح جافة ويستخدم لهذه العملية مايسمى بالمكابس (الضواغط).

وعلى طاولة العمل يتم تجهيز المكابس الخشبية (لوحان من الخشب مقياس عالمي – بهما ثقب للتهوية – واوراق جرائد مطوية – واوراق كرتون للتشرب الماء) حيث يوضع احد اللوحين على الطاولة ثم يوضع طبقة من الكرتون والجرائد, وترص العينات في طبقات تفصل بينها الجرائد او اوراق التجفيف, علي ان تفرد اوراق كل عينة فرداً كاملاً, وترص طبقة اخري. وهكذا حتي يتكون مجلد كبير من الطبقات ثم تغطي باللوح الخشبي الثاني . ويربط اللوحين بالحبل للضغط على العينات ثم تقفد محتواها المائي ومن ثم تتشربه اوراق الجرائد. وتترك لمدة يومين فى مكان جيد التهوية , ثم يُعاد تغير الجرائد بجرائد اخري جديده , وهكذا لمدة ثلاث او اربع مرات حسب طبيعة العينات النباتيه والتقدير الشخصي لمدي جفاف العينات , فكلما كانت العينات النباتيه عصيرية كلما احتاجت الي تبديل اوراق التجفيف على فترات متقاربة عدة مرات.

يلجأ بعض الهواه الي ضغط العينات النبايته بين اوراق بعض الكتب القديمة, ووضع ثقالات وقوالب طوب عليها. وهي طريقة مقبولة ولا تحتاج الى ادوات.

مرحلة التسميم Poisoning:

تعريفها:

قتل الأنسجة النباتية بالمواد السامة التي تعمل ايضا على تكوين طبقة حماية على سطح العينة.و تسمم العينات عموماً مباشرة بعد عملية الجمع أو أثناء عملية الكبس ، وقد يكون بعد عملية التحميل على ورق المعشبة. ومن محاليل التسميم نذكر:

1. محلول كلوريد الزئبق:

يحضر المحلول من 15 جرام كلوريد زئبق مع 35 جرام أمونيوم كلوريد ويذابا في لتر من الكحول 96% يصب المحلول في حوض زجاجي (تستبعد الأواني والأدوات المعدنية) ، تغمس العينات لمدة من 15-20 ثانية ثم ترفع وتعاد إلى المكبس ، تجفف لمدة 24 ساعة تصبح بعدها صالحة للتثبيت على ورق المعشبة. قد يستخدم المحلول بعد تثبيت العينة وذلك بدهان العينات بفرشاة. يراعى عدم لمس الأيدي وأجزاء الجسم وبالأخص الأجزاء التي بها جروح لهذا المحلول ، ويستخدم ماسك من الخشب لرفع العينات بعد غمرها في الحوض.

2) الفورمالين:

وفي هذه الحالة يتم تسميم النباتات بعد الجمع مباشرة . وتستخدم في حالة الرحلات الطويلة والتي لا يتمكن فيها من القيام بعملية فرد وتجفيف العينات لمدة قد تصل إلى أربعة أشهر (تعتبر طريقة لحفظ العينات أيضاً). ويستخدم لذلك فرومالين 10% .تجهيز العينات على هيئة مجموعات (حزم) ملفوفة بورق الجرائد ،

توضح كل مجموعة داخل كيس بلاستيك ، يصب فوقها المحلول بكمية تكفي لتشبع ورق الجرائد فقط دون أن يبقى جزء من المحلول داخل الكيس ، يغلق الكيس ، ويحفظ حتى نتمكن من القيام بعملية التجفيف.

3) التبخير:

وفي هذه الحالة يتم تبخير العينات سواء قبل إتمام عملية التحميل أو بعدها.ويستخدم لذلك أحد السوائل السامة المتطايرة مثل ميثيل بروماید ، رابع كلوريد الكربون ، توضع هذه المحاليل في طبق بتري داخل دواليب المعشبة، وتغلق لمدة أسبوع ، وقد يكون هناك غرف خاصة لمحكمة الغلق لهذه العملية. ولكن في هذه الطريقة لا يتم قتل بيض الحشرات ، وبذلك يجب تكرار عملية التبخير على فترات دورية منتظمة.

وهذه المرحلة يمكن ان يتجاوزها الهواه لخطورة المادة المستخدمة فى التسميم أو استبدالها برش العينات النباتيه التي تم تجفيفها جيدا بمبيد حشري قوي التأثير مع الحذر المعتاد بعدم استنشاق الرذاذ وذلك للاحتفاظ بالعينات لمدة طويلة. أما المشتغلون فى المعشبات العلمية القومية فعليهم تسميم العينات بمحلول كحولي (بنسب 1 جرام كلوريد زئبقيك : ا لتر من كحول ايثيلي) حيث تُغمر العينات للحظات ثم تنشل بملقط وتترك لتجفف, حيث تكون جاهزه للتثبيت.

4. مرحلة التثبيت:

تثبت العينات بعد ذلك على لوحات العرض (ورق بريستل ابيض مقاس 42* 28 سم) على ان تكون اجزاء العينة متساوية وواضحة, وذلك بلصق الاجزاء بلاصق سلوتيب او بالغراء, وتوضع البذور في كيس بلاستيك صغير يثبت في الجانب الايمن العلوي من لوحة العرض.

5. مرحلة التعريف:

تلصق على لوحة العرض فى الجانب الايمن السفلي بطاقة البيانات المتضمنة :

• الاسم العلمي:	.....
• الاسم الشائع (العام):	.....
• تاريخ الجمع:	.....
• الجـــــامع:	.....
• مكان الجمع:	.....

ويقوم متخصص (عالم لتصنيف النبات) بتعريف اسم العينة. وبالتالي تكون العينة المعشبية جاهزة للحفظ فى خزائن المعشبة أو فى ملفات المجموعة المعشبية الخاصة بالهواه.

Reference:

http://theenvironment.maktoobblog.com/category/أخبار-ونشاطات-بيئية/page/92/
http://www.clipartpal.com/clipart/flower/grass_147794.html
http://forum.nooor.com/t51863.html
http://theenvironment.maktoobblog.com/8105/هيئة-حماية-البيئة-والتنمية-في-رأس-الخي/
http://www.back4allah.com/kids/play.php?catsmktba=227
http://www.marefa.org/index.php/معشبة

التدريب العملي الرابع

1. تقسيم الطلاب الي مجاميع بحيث كل مجموعة تقوم بعمل نموذج للمعشبة النباتية.
2. وعرض مجهود المجموعة في صورة مجلة تعرض خطوات عمل المجموعة.

جـــــدول المتابعة

رقم المجموعة:	
اسماء افراد المجموعة:	
توزيع المهام الداخلية:	
المدة المقترحه لانهاء المعشبة:	
تاريخ تقديم المشروع:	
مقدم المشروع:	
عدد الدرجات=	

الدرس العملي الخامس
المعشبة الحيوانية
"اصنعها بنفسك"

الاهداف العامة

هو تعريف الطالب علي احدي تقنيات حفظ الاصول الوراثية وهي المعشبات.

الاهداف الخاصة

ان يتعرف الطالب على كيف يقوم بعمل نموذج للمعشبة مصغر خلال هذه المادة لاحد الكائنات الممثله للمجتمع وهي الحيوانات.

مقدمة:

تحنيط الموتى هو حفظ جثث الموتى بواسطة مواد كيميائية، فيحافظ جسم الإنسان على مظهره ويبدو كأنه حي، عند تسجيته في مكان عام قبل إجراء مراسم الدفن ,وذلك لأسباب طبية أو تزيينية؛ بالإضافة إلى أنه يفي بمتطلبات بعض الديانات التي تؤخر الدفن لعدة أيام، أو تضطر لنقل الجثة إلى مكان آخر، فيمنع التحنيط تعفّن الجثة.

وقدماء المصريين هم أول من مارس هذه العملية في العصور الغابرة ، وكان الغرض من هذه العملية هو حفظ أجساد الموتى من التحلل والفناء ، والاحتفاظ بالمظهر الخارجي للشخص الميت والإبقاء على ملامحه الشخصية.

وكان يدفعهم إلى ذلك عقيدتهم ، حيث كانوا يؤمنون بأن الروح تعود إلى الجسد بعد الموت ، حيث يواصل الميت حياته الثانية في العالم الآخر ، وكانوا يظنون أن الروح قد تظل الطريق في عودتها ولا تتعرف على جثتها إذا تحللت وتعفنت ، فكانوا يحرصون على أن تبقى الجثة في حالة جيدة ، ولهذا أيضاً كانوا يضعون مع الجثة بعض المواد كالحلي والآنية والطعام وغيرها حتى يجد الميت زاده ومتاعه في رحلته إلى حيث يقضي حياته الباقية.

تعريف المعشبة الحيوانية او طرق حفظ الحيوانات عن طريق "التحنيط"

تحنيط الحيوانات هو فن حفظ الحيوانات وإظهارها كما لو كانت حية. تعرض متاحف التاريخ الطبيعي أنواعا من الحيوانات في هيئتها الطبيعية.

الأساس العلمي للحفظ بواسطة التحنيط:

هو نزع ماء الجسم وتجفيفه تماماً ، واستخلاص أي قطعة من اللحم داخل الجسم ، حتى لا تتمكن بكتيريا التعفن من أن تعيش عليها أو تتغذى بها.

الادوات المستخدمة في الحفظ او التحنيط:

الطرق المتبعه للحفظ: 1. **قديمة**

2. **حديثة**

اولاً: الطريقة القديمة للتحنيط : (بالملح والقرنفل) من واقع التجربة كان يتم التحنيط لرأس البدن بالطريقة التقليدية والتي مازال يتبعها أكثر القناصين في وقتنا الحاضر. ومراحلها كالاتي:

1. مرحلة التنظيف
2. مرحلة التعويض
3. مرحلة البناء
4. مرحلة الزبرقة والتجميل

المرحلة الأولى : (التنظيف)

1. سلخ الرأس بالمشرط من تحت الحنك ثم تنظيف الرأس من جميع اللحوم بما فيها اللسان .
2. عملية إخراج المخ بملعقة أو تحريك السكين داخل الجمجمة ثم إدخال الماء ورجه جيدا ثم يخرج المخ ولا يخفى عليكم موقع إدخال السكين (بين العظمين) مع إمتداد فتحة النخاع الشوكي .
3. عملية إخراج العيون وهي عملية معقدة لكي تحافظ على رموش الظبي كما هي لابد من الدقة في قطع الجفون . ثم نزع العين بملعقة وتنظيف محجر العين من الشحوم .
4. غسل الرأس جيدا بالماء.

المرحلة الثانية : (التعويض)

5. نقوم بتعويض جميع ما أخذنا من لحوم بالقطن أو بالخيش وأنا أفضل الخيش .
6. نجهز بلاستيك يشبه أذن الحيوان من أي هوز أحمر نحميه على النار ونكون شكل الأذن . ليحافظ على إمتداد وإعتدال الأذن .
7. نجهز الأسلاك والخيوط القوية مثل سلك السبحة . ونجهز أصلب أنواع الإبر لأن الجلد صعب إختراقه .
8. نبدأ بوضع القرنفل بالطاحون . ثم نخلطه مع الملح .
9. نحضر كورتين من البلاستيك أو الزجاج . لتعويضهما عن العينين.

المرحلة الثالثة: (البناء)

10. نضع الملح والقرنفل داخل الجمجمة بكميات كبيرة . ثم نسد الفتحة بقطن .
11. نضع الملح والقرنفل بين الجلد والعظم .
12. نضع قطع الخيش حول الحنكين ولا نكثر من الخيش لكي لا ينتفخ ويشوه المنظر.
13. ندخل الكرتين محل العيون ونضع قبلهما قليلا من القطن والملح والقرنفل .
14. نضع قطن أو خيش داخل الأنف .
15. نضع بين الأسنان والبرطم قطعة خيش صغيرة تحافظ على بروزهما بشكل بسيط .

16. نضع البلاستيك المحاكي لشكل الأذن داخل تجويف الأذن ونحكم عليه برباط .

17. نخيط الجلد حول بعضه البعض .

18. نأتي بقدر متوسط الحجم ونضع فيه الماء ثم نمزجه بخليط الملح والقرنفل ، ونضع الرأس فيه من الخلف من جهة الأذنين .

19. نربط حبل حول القرنين لكي نشد الأذنين فيه ولكي نعلق الرأس في الشمس . والأنف إلى الأسفل ليخرج جميع الماء من الرأس لمدة ثلاثة أيام .

المرحلة الرابعة : (الزبرقة والتجميل)

20. نأخذ الرأس وننظفه من الملح وذلك بحكه بمشط بلاستيكي برفق ولين لكيلا يتنتف الشعر (فيتشوه الرأس).

21. نصبغ العيون بأي بوية وأفضل شيء (المناكير)

22. دهن القرون بالفازلين بكمية قليلة . ودهن الشعر بالجرجنز. ولا مانع من دهن العود و المسك.

ثانيـاً: الطريقـة الحديثـة وهي سهلة جدا وتعتمد على مرحلتين فقط :

(الفورمالين):

1. (مرحلة الحقن والخياطة)
2. (مرحلة التزيين والزبرقة)

أولاً : إحضار مادة الفرملين بعد حشو الأنف وربط الأذنين تحقن المادة :

ثانيا : تنشيف الرأس في الشمس وتزيينة بعد ثلاثة أيام:

صور من زيارة متحف الحيوان في حديقة الحيوان لعام 2015-2016

التدريب العملي الخامس

1. تقسيم الطلاب الي مجاميع بحيث كل مجموعة تقوم بعمل نموذج للمعشبة الحيوانية.
2. وعرض مجهود المجموعة في صورة مجلة تعرض خطوات عمل المجموعة.

جـــــدول المتابعة

رقم المجموعة:	
اسماء افراد المجموعة:	
توزيع المهام الداخلية:	
المدة المقترحه لانهاء المعشبة:	
تاريخ تقديم المشروع:	
مقدم المشروع:	
عدد الدرجات=	

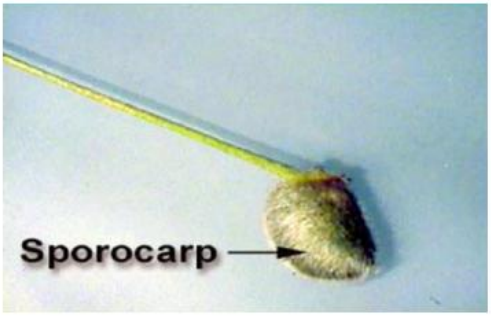
الدرس العملي السادس
المعشبة الفطرية
"اصنعها بنفسك "

الاهداف العامة

هو تعريف الطالب علي احدي تقنيات حفظ الاصول الوراثية وهي المعشبات.

الاهداف الخاصة

ان يتعرف الطالب على كيف يقوم بعمل نموذج للمعشبة مصغر خلال هذه المادة لاحد الكائنات الممثله للمجتمع وهي الفطريات.



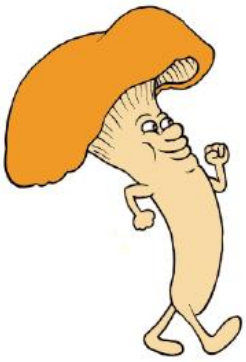
تعريف الفطريات:

- الفطريات ليسوا من النباتات أو الحيوانات. حيث اكدت أوجه التقدم العلمية التي أجريت مؤخرا، وخصوصا في مجال علم الوراثة، أن الفطريات هي شكل من أشكال الحياة متميزة، أكثر ارتباطا Fauna من النباتات.
- على عكس النباتات والفطريات لا تحتوي على الكلوروفيل. معظم الفطريات المجهرية، ولكن بعض(**Macro-Fungi**) تنتج بشكل متقطع الأجسام الثمرية (sporocarps) التي هي واضحة للغاية.

متي تنتج الفطريات الاجسام الثمرية؟

- يمكن لـ **Macro Fungal** أن يحدث الاثمار في معظم أوقات السنة، شريطة درجات حرارة المناسبة وهناك رطوبة كافية في النظام البيئي، ولكن التوقيت الدقيق في كثير من الأحيان نوعا محددا. تتطلب الأنواع المختلفة الظروف البيئية المختلفة لبدء الجسم الاثمار.

ماهي الاسباب التي تجعل للفطريات اهمية؟



- وتضم Macro-fungal أحد المكونات المهمه للغاية وغير المتجانسة من التنوع البيولوجي النظام الإيكولوجي ويؤدي وظائف النظم الإيكولوجية الحيوية. بعض الأنواع Macro-fungal هي الطفيلية، المشيجة المتكاثرة داخل أنسجة النباتات المضيفه واستخراج المركبات العضوية في تدفق المغذيات في اتجاه واحد. حيث ان النباتات المضيفه غير الصحية تموت ويستمر الفطر في تحليل المواد العضوية الميتة. وبهذه الطريقة، يتم تطهير النباتات الميتة ويحدث تجديد النظام البيئي.

نموذج من الفطريات Macro-fungal:

- يتكون فطر عيش الغراب قلنسوة معلقة بساق يحمل القلنسوة، وينمو في الأماكن الرطبة كالغابات، وهو مصدر غني بالبروتينات، إلا أنه فقير بالكربوهيدرات.

اولاً: خطوات حفظ المزارع الفطرية للفطريات Macro-fungal:

فإنه من المستحسن للحفاظ على العينات في حالة طازجة قدر الإمكان ان يتم التجميع في الصباح الباكر. ثم بعد ذلك يتم التقاط الصور فوتوغرافية، والتفاف على الفور العينات في رقائق الألومنيوم أو ورق الشمع، مع الحرص على تضمين علامة جمع.

خطوات التجميع والتجفيف للعينات الفطريه

اولاً: اختيار العينات التي هي في حالة جيدة وممثل عن تباين العشيرة.

ثانياً: استخدام سكين الجيب لاستخراج عينات من الطبقة السفلية للتربة.

ثالثاً: اخذ الصور الفوتوغرافية: بشرط

-ان تكون العينة ناميه في بيئتها الطبيعية عرض تفاصيل العينة مثل الخياشيم أو المسام

- تصوير أي سمات غير عادية، مميزة أو مثيرة للاهتمام والعلامة المجوهرات لتوفير نطاق وكشاهد على رقم مرجعي فريد من نوعه.

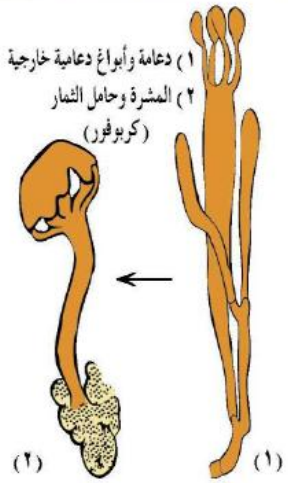
(1)

(2)

(3)

رابعاً: ينبغي أن تكون العينات ملفوفة في ورق مشمع أو فويل (لا تسمح للعينات للصقيع أو تجميد. اضبط الثلاجة في 5-7°). وضع أي عينات اللازمة المجهرية العمل أو الكيميائية الاختبارات في الثلاجة ودراستها خلال 48 ساعة.

خامساً: تسجيل الرموز الميكروسكوبية الرئيسية التي فحصت بشكل عام مثلا:

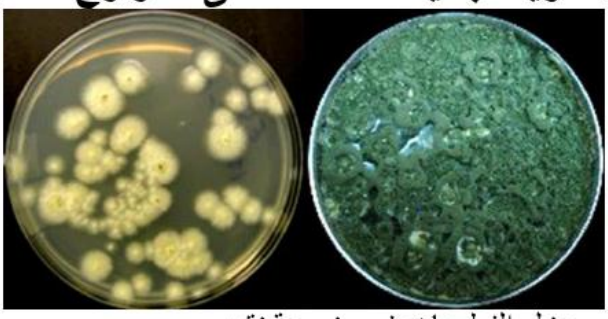


1. شكل أبواغ.
2. حجم أبواغ والطول ويتراوح العرض والمتوسطات - قياس في ميكرون (ميكرون).
3. حجم الدعامات وشكلها.
4. وجود Cystidia والشكل والمكان.
5. Pileipellis البنية الخلوية (النوع).
6. أنواع خيوط الحاضر
7. أبعاد خوطي: مجموعة من الاعراض

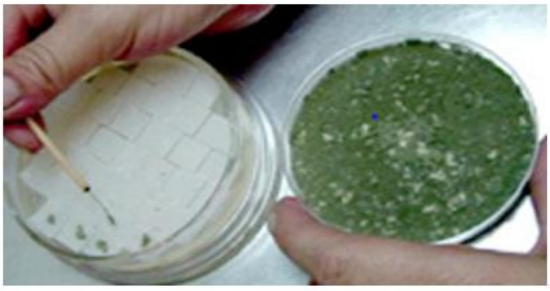
سادساً: ضع جميع العينات المتبقية على مجففات الخاصة (وضعت في درجة حرارة تتراوح بين 42-55°) مع العلامات التي تشمل الملاحظات الميدانية.

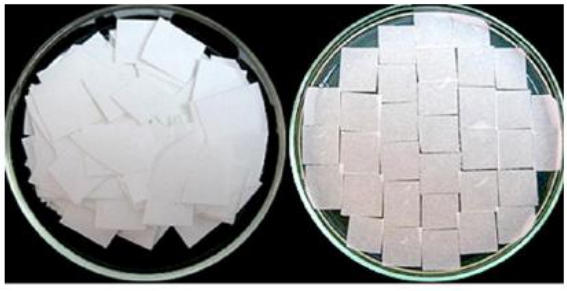
سابعاً: تنفيذ أي اختبارات كيميائية دقيقة مطلوبة، وتسجيل النتائج على ورقة سجل عينة

ثانياً: طريقة بسيطة للحفاظ على المزارع الفطرية:



- **الخطوة الأولى :** هي عزل الفطريات في مزرعة نقيه.
- **الخطوة الثانية :** تقطيع قطعة من ورق الترشيح من حوالي سنتيمتر واحد مربع وتعقيمها في الأوتوكلاف
- **الخطوة الثالثة:** اخذ جراثيم جديدة أو قطعة صغيرة من مزرعة نقية حيث يتم اخذ جزء من مستعمرة جديدة، وضعها كل قطعة من ورق الترشيح (تأكد للعمل في بيئة معقمة).





الخطوة الرابعه: الحفظ في الثلاجات الخاصة بعد التعريف والتوصيف:

التدريب العملي السادس

1. تقسيم الطلاب الي مجاميع بحيث كل مجموعة تقوم بعمل نموذج للمعشبة الحيوانية.
2. وعرض مجهود المجموعة في صورة مجلة تعرض خطوات عمل المجموعة.

جـــــدول المتابعة

رقم المجموعة:	
اسماء افراد المجموعة:	
توزيع المهام الداخلية:	
المدة المقترحه لانهاء المعشبة:	
تاريخ تقديم المشروع:	
مقدم المشروع:	
عدد الدرجات=	

الدرس العملي السابع
المعشبة الحشرية
"اصنعها بنفسك "

الاهداف العامة

هو تعريف الطالب علي احدي تقنيات حفظ الاصول الوراثية وهي المعشبات.

الاهداف الخاصة

ان يتعرف الطالب على كيف يقوم بعمل نموذج للمعشبة مصغر خلال هذه المادة لاحد الكائنات الممثله للمجتمع وهي الحشرات.

المقدمة:

قبل البدء في التعرف على الحشرات ودراستها لغرض تصنيفها أو لدراسة الشكل الخارجي أو التشريح الداخلي، يجب إتباع الخطوات التالية لتجميع وحفظ الحشرات ليسهل دراستها.

خطوات العمل:

1. **التجميع**
2. **قتل الحشرات**
3. **حفظ الحشرات**

أولا : التجميع:

للبدء في عملية تجميع أي نوع من أنواع الحشرات يجب تحديد الآتي:

1. اختيار الأدوات المناسبة لتجميع الحشرات.
2. اختيار الطريقة الملائمة لتجميع الحشرات.

أ – الأدوات المستخدمة في تجميع الحشرات:

1. شبكة حشرات
2. الشفاطة لسحب الحشرات الصغيرة الحجم
3. زجاجات لقتل الحشرات
4. أنابيب زجاجية سعة (75*25مم) أو (50*10مم)
5. ملقط وإبرة ومقص
6. حافظة خاصة لأدوات التجميع
7. عدسة يد مكبرة
8. كراسة ملاحظات وقلم
9. سكين مطوي ومصائد

ب- طرق تجميع الحشرات:

بعد إعداد الأدوات اللازمة لتجميع الحشرات يجب إتباع إحدى طرق التجميع المناسبة الآتية:

1.الالتقاط باليد:

تستخدم هذه الطريقة في تجميع الحشرات الأرضية كبيرة الحجم كالخنافس والصراصير والنمل حيث يتم التقاطها باليد ووضعها في زجاجة القتل. كما تستخدم هذه الطريقة في جمع الحشرات المختبئة تحت قلف الأشجار , أو على الأوراق والأزهار , أو الحشرات المتطفلة على العائل.

2. التجميع بواسطة الشبكات:

تستخدم شبكات خاصة لتجميع معظم أنواع الحشرات الطائرة والمائية, وتصنع الشبكة من قماش خاص طوله حوالي 65 سم , وقطر الفتحة المعدنية للشبكة 30 سم لتدعيم حلقة الشبكة . ويتصل بالحلقة يد مصنوعة من الخشب أو الالومنيوم أو النحاس المجوف يصل طولها حوالي 40 سم . وتجهز شبكة التجميع ويوجد **ثلاثة أنواع مختلفة من شبكات تجميع الحشرات هي:**

أ.شبكة الفراشات:

شبكة مصنوعة من قماش أبيض خفيف من النايلون المسامي الشفاف لكي يسهل رؤية الحشرات داخل الشبكة , وتستعمل هذه الشبكة عادة في تجميع الفراشات والرعاشات.

ب. شبكة الكنس:

مصنوعة من قماش سميك نوعا ما, وتستعمل في تجميع معظم أنواع الحشرات الموجودة على المزروعات الحقلية كالقمح والبرسيم والبطاطس والأعشاب والحشائش . ويتم تجميع الحشرات بحركة الكنس (امتداد اليد على الجانبين من الجسم) على المحاصيل بالشبكة عدة مرات , ثم تلف الشبكة أو تثنى بالتواء اليد بسرعة .

تثنى الشبكة بعد ذلك على حلقة السلك المعدني حاجزة الحشرات داخلها ثم تنقل الحشرات المصطادة إلى زجاجة القتل.

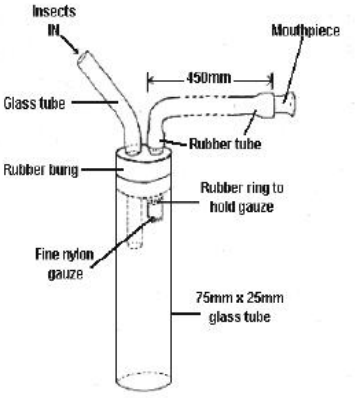
ج. الشبكات المائية:

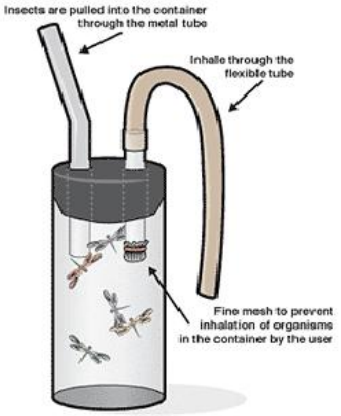
تستخدم لتجميع الحشرات المائية وتصنع من قماش سميك أو من التل المسامي . وتتميز شبكة الماء بصغر حجمها وثقلها , وبها يد طويلة لتصل إلى العمق المطلوب . تجر الشبكة على أرضية القاع ومنها بسرعة إلى السطح , يتسرب الماء وتبقى الحشرات في قاع الشبكة ويتم نقلها إلى إناء التجميع.

3.الضرب:

تستخدم طريقة الضرب في تجميع الحشرات الموجودة على الأشجار والشجيرات بضرب الأغصان والفروع بعصا فيتساقط ما عليها من حشرات في مختلف أطوار نموها على قطعة قماش مشدودة الجوانب أو إناء تجميع مسطح أسفل الأغصان والأفرع.

4. التجميع باستخدام الشفاطة:





تستخدم هذه الطريقة في جمع الحشرات الصغيرة جدا وخاصة المراد جمعها حية مثل المن والنمل وغيرها من الحشرات الصغيرة الدقيقة التي يصعب تجميعها باليد .وتتكون الشفاطة من وعاء زجاجي به سدادة من المطاط أو الفلين تنفذ منها أنبوبتان من الزجاج أو النحاس , توضع الأنبوبة القصيرة على الحشرات عن طريق الشفط , ويمنع دخول الحشرات التي جمعت داخل الشفاطة إلى الفم وجود قطعة من الشاش حول فتحة الأنبوبة .

5. المصائد:

تستخدم المصائد بجميع أنواعها لتجميع العديد من أنواع الحشرات ومن أهم أنواعها:

أ. المصائد الضوئية:

تستخدم هذه الطريقة في صيد الحشرات التي يزداد نشاطها ليلا وتتركب المصائد الضوئية. من مصدر ضوئي (مصباح كهربائي) 200 وات وقمع معدني أملس الجدران , يوجد أسفله مباشرة إناء تجميع يحتوي على مادة حافظة (70% كحول).

ب. المصائد اللاصقة:

تستخدم هذه الطريقة في جمع الحشرات النشطة ليلا ونهارا , وهي عبارة عن اسطوانة أو أنبوبة زجاجية مغطاة بمادة لاصقة , وتوضع على دعامة على الارتفاع المطلوب ويتم دراسة وحصر والتعرف على الحشرات الملتصقة.

ج. المصائد المائـــية:

تستخدم هذه الطريقة لجمع أنواع كثيرة من الحشرات مثل المن والذباب , وهي عبارة عن أوان مطلية من الداخل باللون الأصفر أو الأبيض لجذب الحشرات إليها, دائرية أو مستطيلة الشكل من الزجاج أو اللدائن أو المعدن وتعبأ اواني الجمع بالماء المضاف إليه قليل من الصابون فيعمل على نزول الحشرات من السطح إلى قاع الإناء , كما يضاف أيضا 5% من الفورمالين لحفظ الحشرات من التعفن.

توضع المصائد على ارتفاعات مختلفة , وينصح بملاحظتها باستمرار حتى لا يظهر الماء أثناء سقوط الأمطار أو يتبخر نتيجة لحرارة الشمس العالية .ولزيادة كفاءة هذه المصائد يوضع بداخل الإناء لوح من الزجاج أو صفيحتان من الالومنيوم في وضع متعامد

د.المصائد المستوردة:

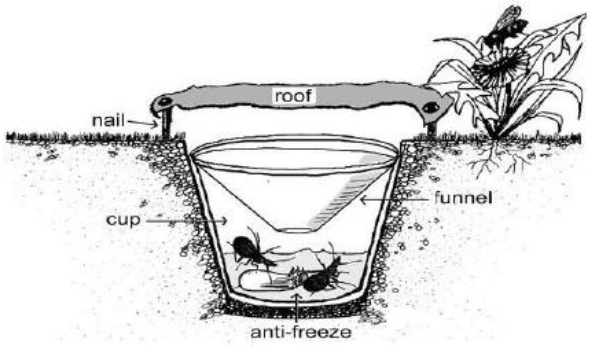
تستخدم هذه الطريقة في تجميع الحشرات الأرضية مثل الخنافس, النمل وصراصير الحقل وتتركب هذه المصائد من إناء زجاجي أو من لدائن ذات فوهة واسعة ويغمر الإناء في حفرة تحت سطح التربة. وعند هطول الأمطار يوضع غطاء لمنع دخول الماء إلى المصيدة

6.الغربلة:

يستخدم في هذه الطريقة بعض انواع من المناخل او قمع بارليز . والتجميع باستخدام طريقة المناخل يتم بجمع الحشرات الصغيرة التي توجد على بقايا النباتات والاوراق المتساقطة وكذلك الحشرات الموجودة مع

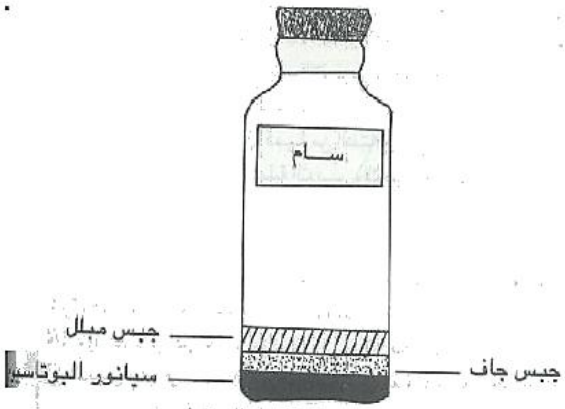
المواد الغذائية والحبوب المخزونة . ويتم غربلة هذه المواد المختلطة بوضع كمية منها في المنخل وتغربل ببطء على قطعة من القماش او الورق المقوى الابيض وتجمع الحشرات المتساقطة بواسطة الشفاطة او فرشة مبللة.

وفي حالة استعمال قمع بارليز توضع العينة المحتوية على الحشرات وبقايا النباتات على حامل منخلي في قمع كبير من الزجاج يوضع اسفله إناء يحتوي على 70% كحول لتسقط فيه الحشرات , ويعلو القمع مصباح كهربائي لتسليط الضوء والحرارة على بعد مناسب من العينة تجعل الحشرات تتحرك اسفل القمع وتسقط في إناء التجميع.



ثانيا : قتل الحشرات:

الخطوة التي تلي تجميع الحشرات الحية , ويتم فيها وضع الحشرات التي جمعت في زجاجات القتل الخاصة. وهذه الزجاجات ذات أحجام مختلفة وفوهة واسعة وغطاء محكم , ويوضع داخلها مادة كيميائية لقتل الحشرات.



شكل (9) – زجاجة قتل الحشرات.

ومن اهم المواد الكيميائية المستخدمة في قتل الحشرات سيانور الصوديوم أو البوتاسيوم , الكلورو فورم , رابع كلوريد الكربون , وخلات الإيثايل . وتعتبر كل من مادتي سيانور الصوديوم والبوتاسيوم من المواد السامة جدا.

وتجهز زجاجة قتل الحشرات كالآتي:

- احضار زجاجة قتل ذات فوهة واسعة نظيفة جافة.

- توضع طبقة من مسحوق سيانور الصوديوم او البوتاسيوم في قاع الزجاجة. يغطي السيانور بطبقة من الجبس الجاف , تليها طبقة اخرى من الجبس المبلل.
- تترك الزجاجة دون غطاء في مكان ملائم حتى يجف الجبس لمدة يوم او يومين , ثم يحكم الغطاء وتصبح جاهزة للاستعمال بعد مدة تتراوح بين 24-48 ساعة.
- يلف شريط لاصق حول قاع الزجاجة من الخارج لمنع تبعثر المادة الكيميائية في حالة كسر الزجاجة , كما تلصق علامة (خطر) على الزجاجة من الخارج.

اما بالنسبة للمواد الكيميائية الاخرى (الكلوروفورم , رابع كلوريد الكربون , وخلات الإيثايل) فهي أقل سمية من مادة السيانور , وتجهز زجاجة القتل لهذه المواد بوضع قطعة قطن مبللة بغحدى هذه المواد في قاع الزجاجة كما يجب إضافة المواد المستعملة كل 24 ساعة في حالة تكرار استخدامها للحفاظ على فعاليتها لمدة طويلة . وتعتبر مادة الإيثايل غير ضارة بالانسان , اما مادتي الكلورو فورم ورابع كلوريد الكربون فهي من المواد السامة للإنسان وينصح بعدم استنشاقها.

ثالثا : حفظ الحشرات:

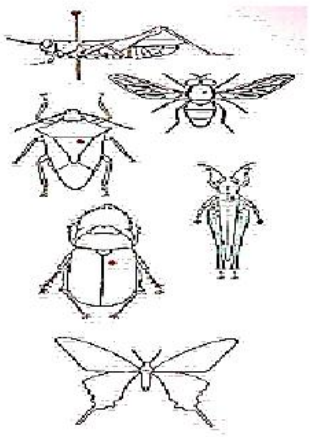
توجد طرق مختلفة لحفظ وتخزين الحشرات لفترة طويلة من الزمن أهمها:

اولاً: التدبيس والتجفيف (الحفظ الجاف).

يفضل استخدام هذه الطريقة لحفظ الحشرات داخل صناديق وأدراج الحشرات . وتستخدم هذه الطريقة عادة للحشرات ذات الجليد الصلب حتى تجف وهي في حالة جيدة . ثم تحفظ العينات في صناديق خاصة مصنوعة من الخشب ذات غطاء زجاجي محكم وقاع فليني , ويكون مقاس الصندوق عادة 23*30*64 سم, وترتب النماذج الحشرية داخل هذه الصناديق غالبا وفقا للترتيب التقسيمي للرتب والعائلات.
ولحماية النماذج الحشرية من التلف بواسطة الحشرات الأخرى مثل النمل وخنافس الجلود, توضع في زوايا الصندوق كمية من النفتالين على هيئة كرات أو على هيئة مسحوق في صرة من الشاش .

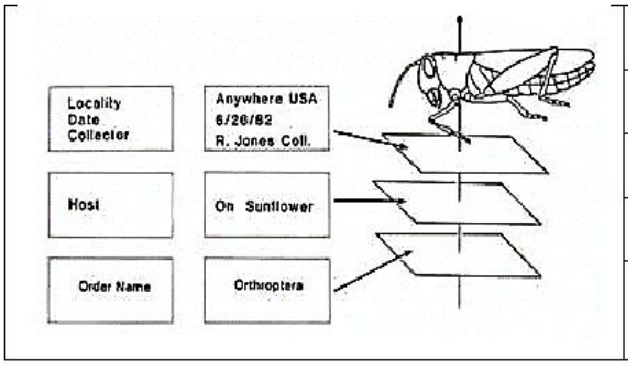
وتـــــتم عمليـــــة التـــــدبيس والتجفيـــــف فـــــي المراحـــــل الآتيـــــة:

أ. التدبيس المباشر:



تستخدم دبابيس من فلاذ غير قابل للصدأ ذات احجام مختلفة , وبعد قتل الحشرة مباشرة وقبل جفافها يغرز الدبوس عادة عموديا في منطقة الصدر , بحيث يترك حوالي 1/4 طول الدبوس أعلى جسم الحشرة . وفي حالة الحشرات من رتبة غمدية الأجنحة يغرز الدبوس اماما في الغمد الأيمن, اما الحشرات نصفية الاجنحة فيجب ان يمر الدبوس بالصفيحة الوسطى المثلثة للحلقة الصدرية الثانية. كما توضع أسفل الدبوس قصاصة او قصاصتين من الورق لكتابة المعلومات الخاصة. والمعلومات الهامة التي يجب كتابتها على قصاصات الورق تشمل الآتي :

اسم الحشرة	
تاريخ التجميع	
العائل (المحصول)	
اسم الجامع	
مكان التجميع	



ب. التحميل على قصاصة ورقية:

تجهز الحشرات الصغيرة الحجم كالحشرات المتطفلة وبعض الحشرات غشائية الاجنحة وثنائية الأجنحة ونصفية الأجنحة , بهذه الطريقة حيث تلصق الحشرة على قصاصة ورق بيضاء بغراء شفاف اولا ثم يغرز الدبوس في موضع مناسف في قصاصة الورق يقابل موضع الحشرة . وتكون قصاصة الورق مثلثة او مستطيلة الشكل كما توضع قصاصة ورقية اخرى اسفل العينة لكتابة المعلومات الخاصة بالحشرة.

ج.التحميل المزدوج:

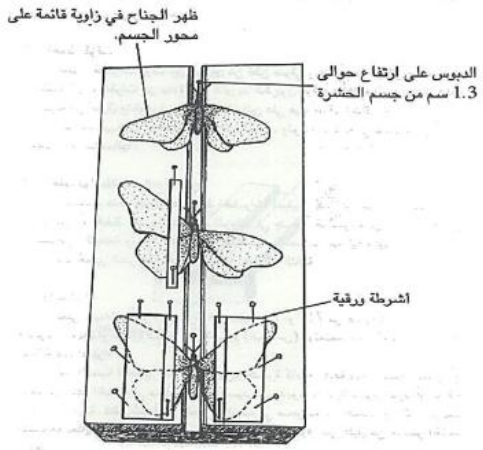
تستخدم هذه الطريقة للحشرات الصغيرة جدا , حيث يغرز دبوس رفيع في صدر الحشرة ثم على طرف قطعة من الفلين ويحمل طرفها الآخر على الدبوس العادي . توضع قصاصة او قصاصتين من الورق اسفل العينة لكتابة المعلومات الخاصة بالحشرة .

د. التصليب (الفرد):

في هذه العملية تفرد الأجنحة والأرجل وقرون الاستشعار في وضع افقي مع مستوى جسم الحشرة حتى تجف هذه الزوائد في الشكل الطبيعي للحشرة.

ويتم الفرد او الصلب باستعمال الصلابة التي تتركب من شريحتين من الخشب إحداهما متحركة والأخرى ثابتة على قاعدة خشبية بينهما مجرى يتناسب مع جسم الحشرة.

توضع الحشرة المراد صلبها (فراشة مثلا) حيث يكون كل من الصدر والبطن في مجرى الصلابة , يغرز الدبوس في صدر الحشرة وتثبت نهايته بمجرى الصلابة بحيث يكون السطح العلوي لجسم الحشرة وسطحي شريحتي الصلابة في مستوى واحد . تفرد الاجنحة على شريحتي الصلابة من الجانبين وتثبت بواسطة شريطين من الورق يثبتان بالدبابيس وتوجه زوائد الحشرة الأخرى (الأرجل وقرون الاستشعار) في وضعها الطبيعي كما في , وتترك الحشرة على الصلابة لبضعة ايام لتجف بعيدة عن هجمات النمل والحشرات الأخرى, ثم تنقل إلى صندوق الحفظ.



شكل (13ب) – طريقة التصليب.

ثانياً:الحفظ في محاليل:

تستخدم هذه الطريقة في حفظ الحشرات التي يصعب حفظها جافة , او للحشرات التي تم تجميعها بواسطة المصائد الضوئية باعداد كبيرة وتحفظ في مادة حافظة تتكون من 70% كحول مع قطرات من الجلسرين لمنع تصلب زوائد الحشرة . توضع ورقة المعلومات الخاصة بالعينة مكتوبة بقلم الرصاص داخل زجاجة الحفظ وتحكم الزجاجة بغطاء محكم مع إضافة الكحول من وقت لآخر.

ثالثاً:الحفظ المؤقت:

تحفظ الحشرات مؤقتا بين طبقتين من قطن صوفي وتلف أغلفة من الورق مع كمية من النفتالين او قطرات من مادة رابع كلوريد الكربون, وتجهز اغلفة الورق بأخذ قطعة مستطيلة من الورق وتطوي من زاويتين متقابلتين على هيئة ظرف. وتكتب البيانات الخاصة بالعينة على الغلاف وتوضع الاغلفة في صناديق أو إدراج لحفظها لحين استعمالها.

رابعاً:الحفظ بواسطة الشرائح المجهرية:

تستخدم هذه الطريقة في حفظ الحشرات الصغيرة جدا كالقمل والبراغيث والمن والتريس . او لحفظ بعض الاجزاء او الزوائد في جسم الحشرة مثل الارجل وقرون الاستشعار والاجنحة واجزاء الفم والثغور التنفسية والقصبات الهوائية وغيرها.

يـــــتم تحضـــــير الشـــــرائح المجهريـــــة باتبـــــاع الخطـــــوات التاليـــــة:

أ. التفكـــك:

تغلى العينات (أجزاء الحشرة) في محلول 5% او 15% من هيدروكسيد الصوديوم (صودا كاوية) او هيدروكسيد البوتاسيوم (البوتاس) , وتعتمد مدة الغليان على مدى صلابة هذه الاجزاء اما بالنسبة لتحضير شرائح مجهرية لحشرة كاملة رهيفة مثل السمك الفضي او البعوض , تنقع الحشرة في محلول هيدروكسيد الصوديوم او البوتاسيوم البارد او الدافئ لمدة 20 دقيقة . تنقل العينة من المحلول وتوضع في صحن به ماء للغسل وغزالة الشوائب المتفككة بعناية , ثم تنقل العينة مرة اخرى إلى ماء يحتوي على قليل من حامض الخليك الثلجي.

ب. إزالة الماء:

تتم عملية إزالة الماء من العينة بنقلها من الماء الحامض ووضعها في تركيزات تصاعدية من الكحول, مع مراعاة تسلسل التركيزات والزمن المحدد لكل تركيز كالآتي

1. كحول 30% لمدة 5-10 دقائق
2. كحول 50% لمدة 8 - 10 دقائق
3. كحول 70% لمدة 10 - 15 دقيقه
4. كحول 85% لمدة 15 - 20 دقيقه
5. كحول 95% لمدة 15 - 20 دقيقه
6. كحول 100% لمدة 20 - 30 دقيقه

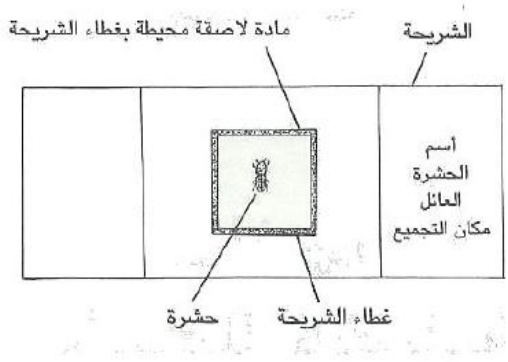
وينصح عند نقل العينه من تركيز كحولي الى اخر بالضغط بحذر على العينه بواسطة ملقط غير حاد ليتخلل الكحول انسجة العينه وفي حالة التحضير المجهري للحشرات الدقيقة او الرهيفة يجب تعريضها لتركيزات الكحول بزمن اقل.

ج. الترويق

يستعمل الزيلول في عملية الشفافية كما يستخدم البنزين وزيت القرنفل لنفس الغرض . تجفف العينات كبيرة الحجم من الكحول المطلق بوضعها على ورقة ترشيح ثم تنقل مباشرة الى الزيلول من 15 - 20 دقيقة لتصبح رائقة او شفافة بعض الشي ويجب الا تبقى العينه لمدة طويله في محلول الزيلول قبل إعدادها حتى لا تتكسر أجزاؤها.

د. إعداد العينة على الشريحة:

بعد عملية الترويق تنظف الشريحة الزجايجية جيدا بالكحول المطلق ويوضع في منتصفها كمية قليله من صمغ كندا بلسم على العينة وتغطى بماء الشريحة الزجاجي بوضع مائل بمساعدة إبرة لتجنب تكوين فقاعات هوائية في العينة بعد ذلك تلصق بطرفي الشريحة بطاقة أو بطاقتين وتكتب البيانات ألازمة على كل بطاقة بالحبر الهندي ثم تجفف وتحفظ في علب أو إدراج خاصة بالشرائح.



شكل (15) – يوضح طريقة إعداد العينة على الشريحة المجهرية.

http://lab-plant.blogspot.com.eg/2014/02/blog-post.html

التدريب العملي السابع

1. تقسيم الطلاب الي مجاميع بحيث كل مجموعة تقوم بعمل نموذج للمعشبة الحيوانية.
2. وعرض مجهود المجموعة في صورة مجلة تعرض خطوات عمل المجموعة.

جـــــدول المتابعة

رقم المجموعة:	
اسماء افراد المجموعة:	
توزيع المهام الداخلية:	
المدة المقترحه لانهاء المعشبة:	
تاريخ تقديم المشروع:	
مقدم المشروع:	
عدد الدرجات=	

ثالثاً: تقنيات حفظ الاصول الوراثية عن طريق وسائل التكنولوجيا الحيوية وهي "زراعة الانسجة"

الدرس العملي الثامن
الحفظ المعملي للأصول الوراثية
"بواسطة زراعة الانسجة"

الاهداف العامة

هو تعريف الطالب علي احدي تقنيات حفظ الاصول الوراثية وهي زراعة الانسجة.

الاهداف الخاصة

ان يقوم بالتعريف علي ادوات زراعة الانسجة واستخدامها في حفظ الاصول الوراثية.

تعريف زراعة الأنسجة النباتية:

هي عملية زراعة خلية أو نسيج أو عضو نباتي داخل المعمل في وسط غذائي و تحت ظروف خاصة وملائمة لنمو النسيج النباتي.ومن منطلق هذا التعريف يسمي هذا النوع من الزراعة بالأسماء التالية:

1. زراعة الخلايا النباتية Plant Cell Culture
2. زراعة الأنسجة النباتية Plant Tissue Culture
3. زراعة الأعضاء النباتية Plant Organ Culture

ماهو الوسط الغذائي:

هو وسط صناعي يحضر في المعمل حسب نوع النبات لينمو فيه وبعض معامل زراعة الأنسجة تشتريه محضر من الشركات ولكنه يكون ذات تكلفة عالية، وهو يتكون من:

1. العناصر الغذائية الكبري	2. العناصر الغذائية الصغري
3. مركبات الحديد	4. الفيتامينات
5. هرمونات النمو	6. وكربوهيدرات (سكروز)
7. تعديل الرقم الهيدروجيني P^H	8. الأجار
9. الفحم المنشط (يستخدم في بعض الأوساط وهو يعمل علي إزالة المركبات الفينولية وتمنع التاثير السلبي علي الإنسجة).	

ماهي اهداف استخدام زراعة الانسجة كوسية للحفظ المعملي للأصول الوراثية :

تعتبر طريقة الحفظ المعملي أفضل الطرق للمحافظة على المادة النباتية التي تتكاثر خضريا ، الأنواع ذات البذور وكذلك الأنواع المهندسة وراثيا ومن أهم مميزات هذه الطريقة :

- الحاجة إلى مساحة صغيرة للمحافظة على أعداد كبيرة من النباتات المتكاثرة خضريا .
- الحفاظ على المادة الوراثية بعيدا عن مصادر الإصابة المرضية والحشرية .
- الحماية من الظروف المناخية غير المناسبة
- سهولة الإكثار لانتاج أعداد كبيرة من النباتات عند الحاجة إليها في أي وقت .
- تقليل العوائق والإضرار التي قد تتسبب بواسطة نظام الحجر الزراعي حيث أن هذه الأنواع موجودة وتنقل تحت ظروف تعقيم وتطهير كاملة .

وسوف نتناول فقط تطبيقات زراعة الخلايا والأنسجة في عملية المحافظة على الأصول الوراثية.

صور الأصول الوراثية المحفوظة : Materials Used For Conservation

المواد الوراثية التي تحفظ في المعمل قد تكون بروتو بلاست معزول – خلايا من مزارع سائلة – مزارع كالوس ، قمم مرستيمية ، وحدات تكاثرية في مراحل مختلفة من التكشف ونباتات كاملة.

حفظ المادة الوراثية عن طريق إعادة الزراعة Subculture على فترات متقاربة له بعض العيوب منها:

1. خطورة فقد هذه المواد نتيجة الخطأ البشري في الحفاظ على هذه الأنسجة داخل المعمل أو تعرضها لمسببات الأمراض .
2. أيضا عدم الثبات الوراثي والذي يظهر كنتيجة لتكرار الزراعة وظهر هذا العيب بصفة أساسية في الخلايا والأنسجة غير التكشفية (كالوس) وتتراوح التغيرات الوراثية ما بين إضافة أو نقص تتابع جيني .

لتفادي مشاكل subculture:

وقد وجد أن المحافظة على المادة الوراثية في صورة نباتات كاملة ومن ثم إكثارها بواسطة استخدام قطع السلاميات (بطاطس) أو التفصيص (موز) يقلل من فرصة التعرض لعدم الثبات الوراثي وهو أحد المتطلبات الأساسية في الحفاظ على الأصول الوراثية أيضا تقليل عملية إعادة الزراعة بأقل صورة ممكنة . وهذا يمكن أن يتم بواسطة عدة طرق منها التخزين البارد وأيضا تحت ضغط جوي منخفض وأكسجين منخفض وأيضا يمكن الحفظ بالتجميد.

وعموما لا يمكن حفظ المادة النباتية على درجة الحرارة العادية للنمو لأنها تستمر بنشاطها مما يؤدي لتدهورها ويتم المحافظة عليها إما بتخفيض نشاطها ونموها إلى الحد الأدنى وبذلك يمكن حفظها لمدة قد تصل من عدة شهور إلى سنة أو اثنين أو يتم وقف نموها تماما عن طريق تجميدها بالنيتروجين السائل.

ومن هنا تنقسم طرق الحفظ المعملي إلى طريقتين حسب مدة الحفظ:

(1) حفظ الأنسجة النباتية لمدة قصيرة لمتوسطة (2) حفظ الأنسجة النباتية لمدة طويلة

Short to medium term storage Long Term Storage

أولا : حفظ الأنسجة النباتية لمدة قصيرة او متوسطة :

يتم حفظ الأنسجة النباتية لفترة زمنية تستمر من عدة أشهر لأكثر من سنة عن طريق تقليل نمو الأنسجة للحد الأدنى ويتم ذلك بعدة طرق :

1- التحكم في درجة الحرارة والإضاءة Control of temperature and lighting

وفي هذه الطريقة تقلل درجة الحرارة عن الحد الأمثل للنمو وكذلك تقلل شدة الإضاءة أو حتى التحضين والحفظ في ظروف الإظلام التام وبهذا يتم تقليل نمو الأنسجة وتطول فترة بقائها داخل أوعية الزراعة (Al Maari,1986)

وتختلف درجة حرارة الحفظ باختلاف النوع النباتي فنباتات المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية تحفظ على درجات حرارة مرتفعة نسبيا 14-20 م

مثال : حفظ الأجنة الخضرية لنخيل البلح على درجة 18م لمدة 10 أشهر (Hassan 2002) وكذلك حفظ الموز صنف William's لمدة سنة على درجة 15ºم (Hassan,1996) بينما نبات الفراولة أمكن حفظه على درجة حرارة 4º م والعنب على درجة 9ºم (نباتات مناطق معتدلة)

2- تعديل بيئة الزراعة Modification of culture medium

ويشمل هذا التعديل ما يلي :

أ- تقليل أو زيادة تركيز السكر في البيئة

Decreasing or increasing sugar concentration

تقليل او انعدام مستوي السكروز في البيئة	زيادة السكروز في البيئة
استخدام تركيز السكروز كمصدر للطاقة بنسبة قليلة	أيضا **زيادة السكروز في البيئة** يعمل على رفع

أو حتى غياب السكر يؤدي لتقليل النمو للحد الأدنى **مثال : -** أمكن تخزين وحفظ زراعات لنبات البن Coffee لمدة سنتين في البيئة خالية من السكر مع تقليل قوة الأملاح إلى النصف في وجود الإضاءة.	الضغط الأسموزي وتقليل نمو النبات **مثال : -** حفظ نبات الطماطم بيئة تحتوي على 5% سكروز

ب- تقليل تركيز المغذيات المعدنية

Decreasing the supply of inorganic nutrients

في هذه الطريقة تقلل قوة الأملاح الكاملة إلى 4/3 ، 2/1 ، 4/1 أو حسب النبات فيقل النمو

مثال : حفظ القرنفل في بيئة تحتوي على 4/1 أو 2/1 قوة أملاح موراشيجي وسكوج مع زيادة نسبة السكروز لـ 5% وكذلك أمكن حفظ زراعات العنب في بيئة تحتوي على 4/1 تركيز أملاح نترات الأمونيوم لبيئة موراشيجي وسكوج (Murashige and Skoog medium).

حـ - تعديل القوة الأسموزية لبيئة الزراعة

Changing the osmotic potential

وذلك بإضافة السكريات الكحولية مثل السوربيتول ، المانيتول أو زيادة تركيز السكروز في البيئة وكذلك استخدام الجليسرول.

3- استخدام منظمات النمو The use of growth regulators

من هذه الأنواع حامض الأبسيسك (ABA) ، سيكوسيل (CCC)، Paclobutrazol (باكلوبوترازول هي مادة كيميائية تستعمل كمثبط لنمو النبات وتعمل بعكس هرمون الجبرلين. تؤثر على النبات عن طريق منع إنتاج الجبرلين، فتؤدي إلى إبطاء تثبيت الكربون (التمثيل الضوئي) ونمو رواحب قصيرة فيصبح النبات أقصر وتخف وتيرة نموه. يستعمل هذا المركب لزيادة تحمل النبات للجفاف عن طريق تقليل النتح والاحتياجات المائية).

وينحصر عمل هذه المركبات في الأتي:

- سكون الأعضاء النباتية
- تقليل البناء الخلوي
- منع انقسام الخلايا

- تقليل حساسية الخلايا لدرجة الحرارة المنخفضة وبذا يمكن حفظ الأنسجة النباتية لمدة طويلة .

4- الحفظ تحت ضغط وأكسجين منخفض Low pressure and low - oxygen

حيث يؤدي تقليل الضغط الجوي حول النباتات لتقليل النمو وكذلك تقليل الأكسجين باستخدام الزيوت المعدنية بإضافتها على سطح بيئة نمو النباتات يؤدي لمنع تبادل وانتشار الغازات مما يسمح بتقليل النمو للحد الأدنى.

5- يمكن استخدام أكثر من طريقة من الطرق سالفة الذكر معا لزيادة مدة الحفظ .

ثانيا : الحفظ لفترات طويلة : (Long term storage (Cryopreservation

يتم حفظ الأنسجة النباتية لفترات طويلة عن طريق استخدام النيتروجين السائلLiquid nitrogen وفي (- 196º c) . هذه الطريقة يتم وقف كافة العمليات الحيوية ونشاط النمو نهائيا ادخلت هذه التقنية للإستخدام في تجميد النباتات منذ عام 1975 وقد استخدمت هذه الطريقة في عدد كبير من الأنواع النباتية مثل البسلة – القمح – جوز الهند – نخيل الزيت ونخيل البلح (Bajaj, 1987). ويحتاج العمل في هذا المجال إلى مهارات خاصة لابد من توافرها في القائمين على العمل ومن الضروري حماية الخلايا المجمدة من جروح التجميد أثناء عملية التجميد نفسها وحمايتها من تكون بلورات الثلج داخل العضو حيث تكون هذه البلورات يؤدي لفقدان الحيوية.

وتشتمل عملية الحفظ بالتجميد على الخطوات التالية:

أ- مرحلة تمهيدية Pretreatment stage

في هذه المرحلة يتم زراعة الأنسجة النباتية المراد تجميدها بالنيتروجين على محلول مغذى يحتوى على المحلول المستخدم في إكثار الأنسجة نفسها مضافا له بعض المواد التي تعمل على رفع الضغط الأسموزي لبيئة الزراعة ويحدث بلزمة للخلايا بخروج جزء من الماء إلى خارج الخلية فتصبح أكثر مقاومة لعملية التجمد من هذه المواد السكريات مثل السكروز والجلوكوز بتراكيز مرتفعة .

- السكريات الكحولية مثل السوربيتول والمانيتول
- البولي إثيلين جليكول Polyethlelene glycol (PEG)
- بعض الأحماض الأمينية مثل Proline
- كذلك قد تضاف مادة Dimethyl sulfoxide (DMSO)

وطبيعة عمل هذه المادة يتلخص في اختراقها للخلايا بسهولة وسرعة نفاذيتها إلى الداخل وبذلك تحمى الغشاء البلازمي من التشقق أثناء عملية التجميد. ويمكن استخدام مزيج من عدة مواد حافظة مثل PEG %10 + 8% جلوكوز + DMSO%10 والذي استخدم مع نخيل البلح صنف مدجول

ب- مرحلة التجميد Freezing

توضع الخلايا في الوسط الغذائي مع توفر مادة للحماية من التجميد ثم تنقل إلى أنبوبة من مادة البولي برولين مغطاة ثم تجمد بإحدى الطرق التالية :-

1- طريقة التجميد البطئ Slow Freezing Method

تجمد الخلايا بطريقة بطيئة على درجات حرارة منخفضة بسرعة تتراوح ما بين 5–4ºم/ دقيقة بداية من الصفر المئوي حتى تصل إلى – 100ºم ثم تنقل بعد ذلك إلى النيتروجين السائل.

2- طريقة التجميد السريع Rapid Freezing Method

وتتلخص في أخذ الوعاء المحتوى على المادة النباتية ووضعه مباشرة في النيتروجين السائل وكمية المحتوى المائي للعينة هي أحد العوامل المحددة لاستخدام أي طريقة من طرق التجميد سواء السريع أو البطئ فالعينات التي تحتوي على كمية قليلة من الماء مناسبة أكثر للتجميد السريع مثل البراعم الطرفية لنبات الفراولة ويعاب على طريقة التجميد السريع فقدان بعض الخلايا النباتية لحيويتها ولذا يجب استخدام طرقة التجميد التدريجي.

3- طريقة التجميد التدريجي Stop-wise Freezing Method

وفيها تدمج الطريقتين السابقتين حيث تبرد العينة النباتية بواسطة التبريد بسرعة تتراوح ما بين 1-5ºم/ دقيقة حتى الوصول لدرجة متوسطة وتحفظ عليها لمدة 30 دقيقة ثم تغمس بعدها في النيتروجين السائل.

4- طريقة التجميد الجاف Dry Freezing Method

هنا ينزع بعض الماء من المادة المراد تجميدها بواسطة التجفيف في أحد الأفران وتحت تفريغ . الفكرة الأساسية لعملية التجميد الجاف نبعت من الحقيقة السائدة من أن البذور الجافة غير النابتة قادرة على الحياة عند تجميدها على درجات حرارة منخفضة مقارنة بالبذور المتشربة لكمية عالية من الماء . على نفس المنوال فإن عملية التجفيف للأعضاء النباتية تؤدي إلى نسبة حيوية عالية للأعضاء .

جـ- إذابة الثلج Thawing أو مرحلة التسخين

تغمس الأنسجة المجمدة مباشرة في حمام مائي على درجة حرارة 37- 40ºم لمدة دقيقة حيث تزال البلورات الثلجية من الأنسجة .

د – إعادة الزراعة Re-culture

تنقل النباتات المحفوظة بعد الخطوات السالفة الذكر لوسط غذائي جديد مناسب لحثها على النمو والإكثار من جديد مع توفر كافة الظروف الملائمة للنمو.

حيوية الخلايا والأنسجة المحفوظة Viability of Preserved Cells and Tissues

سواء تم حفظ الأنسجة النباتية لمدة قصيرة أو لمدة طويلة فبعد مدة الحفظ لابد من التأكد من بقاء هذه النباتات حية ودراسة مقدرتها على النمو والتطور بعد مدة الحفظ ويتحقق ذلك بنقل الأجزاء التي تم حفظها إلى ظروف النمو الطبيعية ومتابعتها للوقوف على مدى حيويتها ويتم تقدير نسبة الحيوية بمعادلة بسيطة جدا هي كالتالي :

نسبة الحيوية =

(عدد الخلايا والأعضاء التي نمت تحت الظروف الطبيعية ×100) / عدد الخلايا والأعضاء الكلية التي تم حفظها.

وهناك العديد من الوحدات التي تستخدم في إجراء عمليات التجميد للعينات النباتية أبسطها يطلق عليها Dewar flask والتي تملئ بالنيتروجين السائل حيث تغمس به الأمبولات المحتوية على العينة النباتية المراد حفظها.

تأثير عملية الحفظ على الثبات الوراثي للأنسجة النباتية:

إن عملية حفظ الأنسجة النباتية هامة جدا فيما لو حافظت على الثبات الوراثي للنباتات بشكل يشابه النبات الأم . وقد دلت الأبحاث التي اجريت على عدد من النباتات مثل الجذر ، القمح ، البطاطا والتي تم حفظها بالتجميد لفترة من الزمن قد حافظت على حيويتها وتشابهت النباتات المحفوظة في نموها وسلوكها مع النبات الأم مما يدل على أن عملية التجميد حافظت على الثبات الوراثي للنباتات . كذلك دلت الأبحاث على أن كالوس نخيل البلح المجمد قد حافظ على حيويته وقدرته على إعطاء أجنة خضرية ونباتات كاملة وكانت النباتات الناتجة مشابهة وراثيا للنبات الأم . كما تشابهت النباتات الناتجة من الأجنة الخضرية لنخيل البلح والتي تم حفظها معمليا لمدة 10 أشهر مع النبات الأم وتم قياس الاختلافات باستخدام طريقة RAPD-PCR.

Reference:

- المعرى خليل (1995) : إكثار النخيل بواسطة تقنيات زراعة الأنسجة النباتية جامعة دمشق كلية الزراعة . ص 256
-George , E. F. (1993) : Plant propagation by tissue culture by Bulter Tanner Ltd.
-Hassan, M.M. (1996): Micro propagation of some tropical fruit trees (Banana) . M. Sc. Thesis. Cairo University. Egypt
-Hassan, M.M. (2002): In vitro studies on somatic embryogenesis conservation of date palm . Ph. D. thesis .Cairo University. Egypt
-Tisserate , B; J.M. Ulrech and B.J.Finkle (1981) : Cryogenic preservation and regeneration of date palm tissue . Hortscience, 16 (1) = 47-48

التدريب العملي الثامن

1. ان يقوم الطلاب بعمل تجربة زراعة انسجة علي ان يتم تقسيمهم مجاميع لتطبيق كل انواع الحفظ المتاحه معملياً.

جـــــدول المتابعة

نوع النبات:	
اسم النبات:	
اسم البيئة:	
عدد البرطمانات:	
تاريخ الملاحظة:	
نسبة التلوث:	
نوع التلوث:	
ملاحظات اخري:	
عدد الدرجات=	