

استعملت في هذه العملية النماذج الطرية (تقطع مباشرة) والنماذج الجافة توضع ب KOH لمدة يوم

لغرض تطريتها بعد ذلك توضع النماذج في FAA بعدها تغسل بالكحول الايثيلي 70% ثم تقطع الى شرائح رقيقة اما بأستعمال المشروط الحاد او بأستعمال المشراح الدوار اليدوي الصغير الحجم اذ يتم وضع الاجزاء المراد تقطيعها التي تكون بطول 3-5 سم توضع في المكان المخصص لها في المشراح بعد أن تثبت داخل ساق نباتي صلد لغرض السيطرة عليها تقطع الى شرائح رقيقة بأستعمال سكين او الشفرة الخاصة بالمشراح و كما جاء في (Aliwy (2009) يتم صبغ النماذج و كالأتي :-

- 1- صبغت النماذج بصبغة السفرانين (المحضرة كما في الطريقة السابقة) لمدة 20-30 دقيقة .
- 2- نقلت المقاطع بعدها الى كحول ايثيلي بتركيز 70% و لمدة دقيقتين لازالة الصبغة .
- 3- و نقلت المقاطع الى كحول محمض (يحضر بأضافة 1مل من حامض الهيدروكلوريك او النتريك او الخليك المركز الى 99 مل من كحول 70%) و لمدة دقيقتين .
- 4- نقلت المقاطع الى كحول ايثيلي بتركيز 90% و لمدة دقيقتين .
- 5- صبغت النماذج ب Fast green لبضع ثوان .
- 6- نقلت المقاطع الى كحول ايثيلي 96% مرتين لمدة دقيقتين لكل مرة .
- 7- استبدل الكحول السابق بكحول مطلق لمرتين و لمدة دقيقتين لكل مرة .
- 8- نقلت المقاطع بعدها الى مزيج من الكحول المطلق والزايلين بنسبة حجمية 1:1 و لمدة دقيقتين.
- 9- استبدل المزيج السابق بالزايلين النقي لمرتين و لمدة دقيقتين لكل مرة .
- 10- وضعت النماذج على شريحة زجاجية ثم حملت بكندا بلسم وضع غطاء الشريحة و وضعت الشرائح تحت اشعة الشمس لمدة 3 ساعات أو أكثر (لازالة الفقاعات) بعد جفافها درست المقاطع بالوسائل المذكورة انفا.

5.2.2: دراسة حبات الطلع **Pollen grain study** :

اعتمد في دراسة حبات الطلع على العينات الطرية كذلك على العينات المعشبية الجافة التي أخذت من المعاشب بعد التأكد من تشخيص هذه العينات, اتبعت في هذه الدراسة طريقة Acetolysis التي وردت في (1991) Al-Shammary مع بعض التحوير و كالاتي:-

* نأخذ أزهار ناضجة من العينات الطرية والجافة، بالنسبة للعينات الطرية فقد استعملت مباشرة في حين تم استعمال العينات الجافة بعد تنقيتها في الماء لمدة (15-30) دقيقة .

* ثم نأخذ زجاجة ساعة نضع فيها بعض قطرات الماء ونضع متك زهرة يحتوي داخله حبات طلع ونبدأ بعمل شقوق بالمتوك لاجراء حبات الطلع .

* و بعد ذلك نسخن على مصباح بنزن Benzen Burnen أو سطح حار Hot Plate بدرجة 60م⁰ حتى تجف القطرات المائية ثم نضع (3-4) قطرات من محلول Acetolysis والذي يتكون من (حامض الخليك المركز و حامض الكبريتيك المركز بنسبة 1:9) .

* يحرك الخليط مع حبات الطلع على درجة حرارة 70م حتى يصبح لون المحلول بنيا Brown .
* يضاف الكحول الايثيلي بتركيز 100% بعناية الى الخليط الحار كقطرات فنلاحظ أن المحلول بدأ يتجه نحو حافة زجاجة الساعة .

* ثم يسحب منه عينة بوساطة قطارة لتوضع على شريحة زجاجية نظيفة و حبات الطلع المعاملة بالمحلول تحمل في الكليسرين - جلي (Glycerine - jelly) الحاوي على صبغة السفرانين الذي يحضر حسب (Sass 1958) ، و يوضع غطاء الشريحة برفق لتصبح جاهزة للفحص المجهرى .
* يحضر الكليسرين - جلي من (5غم من الجيلاتين Gelatine يذاب في 30مل من الماء المقطرو 35مل من الكليسرين Glycerine وتضاف قطرتين من صبغة السفرانين و يكون عندها جاهز للعمل) .

* فحصت الشرائح تحت المجهر الضوئي المركب من نوع Olympus، و بأستعمال عدسة عينية مدرجة Ocular micrometer، تم قياس ما يقارب (25-30) حبة طلع لكل نوع، كما صورت الشرائح بوساطة آلة التصوير المثبتة على المجهر المركب تحت العدسة الزيتية Oil immersion lens .