

المعمل الثاني

الانقسام الخلوي

الانقسام الخلوي في الكائنات وحيدة الخلية يعد صورة من صور التكاثر، وينشأ عن هذه العملية فردان جديان متمثلان تماما. بينما تنشأ الأفراد متعددة الخلايا عن خلية بدائية هي الزيجوت Zygote، وهذه الخلية تتضاعف مكونة الأنسجة والأعضاء. ويحدد حجم الكائن الحي بعدد الوحدات التي يتكون منها جسمه وليس بحجم الخلايا المفردة. ويحدث تضاعف للخلايا نتيجة لانقسامها. والجدير بالذكر أن الخطوات الأساسية للانقسام في الكائنات النباتية والحيوانية متشابهة تقريبا ولا توجد إختلافات بينية بينهما.

الانقسام الخلوي يشمل إنقسامين غالبا يكونان مستقلين، وهما إنقسام السيتوبلازم و إنقسام النواة. ويشتمل انقسام النواة علي نوعين هما:

- 1- الانقسام الميوزي Meiosis أو الإختزالي Reduction division. وهو المسئول عن تكوين الامشاج التناسلية او الجاميطات Gametes سواء كانت مذكرة أو مؤنثة.
- 2- الانقسام الميتوزي Mitosis أو الجسمي Somatic division أو العادي Ordinary أو غير المباشر Indirect. و هذا الانقسام هو المسئول عن تضاعف وزيادة عدد الخلايا في جسم الكائن الحي مع تعويض الخلايا التالفة.

الانقسام الميوزي Meiotic Division

يحدث هذا الانقسام في خلايا الاعضاء التناسلية لانتاج الامشاج Gametes المذكرة او المؤنثة سواء في النبات او الحيوان، وتحتوي انوية هذه الامشاج Haploid Cell على نصف عدد الكروموسومات n الموجود في الخلية التناسلية الامية Diploid Cell الذي يكون $2n$. نتيجة اتحاد المشيج المذكر مع المشيج المؤنث يكون خلية اللاقحة Zygote التي تحتوي على مجموع عدد الكروموسومات في كلا من المشيج المذكر والمؤنث $2n$.

الانقسام الميوزي ينتج عنه انقسام الخلية التناسلية الامية الي اربع خلايا بنوية تكون الامشاج الذكرية او الانثوية و يمكن تمييز مراحل الانقسام الميوزي الى مرحلتين اساسيتين :

2- الانقسام الميوزي الثاني Meiotic Division II

1- الانقسام الميوزي الاول Meiotic Division I

اولا : الانقسام الاختزالي الميوزي الاول Meiotic Division I

وفيه تنقسم نواة الخلية الامية ثنائية العدد الكروموسومي $2n$ الى نواتين بنويتين احادية العدد الكروموسومي n من خلال مجموعة اطوار هي:

1- الطور التمهيدي الاول Prophase I

ويتميز الى مجموعة من الاطوار هي:

Lepton (Thin) - Nema (Thread)

1- الطور القلادي Leptonema

الكروموسومات تظهر كخيوط طويلة رفيعة ملتوية وملفوفة حول بعضها، تبدأ عملية الحلزنة. نصف الكروموسومات ينتمي الى الاب والنصف الاخر ينتمي الى الام.

Zygon = Adjoining

2- الطور التزاوجي Zygonema

الكروموسومات المتماثلة تبدأ في الالتصاق synapsis ببعضها على اي نقطة بطول الكروموسوم عند مواضع محددة تسمى كيازومات Chiasma- تنتهي عملية الالتصاق الجانبي - تستمر عملية الحلزنة.

Pachynema

3- الطور الضام Pachus (Thick)

يكتمل تكاثف الكروموسومات و تزاوجها و تظهر الوحدة الكروموسومية الرباعية bivalent مكونة من اربعة كروماتيدات - يتم تبادل اجزاء من الكروماتيدات الغير شقيقة Chromosome Segment Recombination و تعرف العملية بالعبور Crossing Over. و يختفي الغشاء النووي.

Diplo = Two

Diplonema

٤- الطور الانفراجي

تبدأ الكروموسومات المتماثلة المتصلة في الانفصال عن بعضها ما عدا عند مناطق الكيازومات - تختفي النوية - تستمر عملية التحلزن.

Dia = Acros

Diakinesis

٥- الطور التشتتي

تنتهي عملية الحلزنة coiling و تظهر خيوط المغزل.

٢- الطور الاستوائي الاول Metaphase I

و فيه تنتظم الوحدات الكروموسومية المتلاصقة على خط استواء الخلية بحيث يقع كل سنتروميير على احد جوانب هذا الخط.

٣- الطور الانفصالي الاول Anaphase I

تتفصل الوحدات الكروموسومية و تتجه الكروموسومات باتجاه اقطاب الخلية. ليحتوي كل قطب على نصف عدد الكروموسومات التي تكون متحورة نتيجة عملية العبور.

٤- الطور النهائي الاول Telophase I

كل نواة تحتوي على نصف عدد كروموسومات الخلية الامية و الكروموسوم مكون من كروماتيدتين ثم يتكون الغلاف النووي والنوية ويبدأ انقسام السيتوبلازم.

ثانيا : الانقسام الاختزالي الميوزي الثاني Meiotic Division II

تنقسم فيه كل نواة بنوية الى نواتين من خلال مجموعة من الاطوار هي:

Prophase II

١- الطور التمهيدي الثاني

تظهر فيه الكروموسومات على هيئة خيوط طويلة ورفيعة.

Metaphase II

٢- الطور الاستوائي الثاني

تظهر خيوط المغزل و ترتبط مع سنتروميير كل كروموسوم - تنتظم الكروموسومات في خط استواء الخلية.

Anaphase II

٣- الطور الانفصالي الثاني

تتفصل الكروماتيدات عند منطقة السنتروميير - تتجه كل كروماتيدة الى احد اقطاب الخلية.

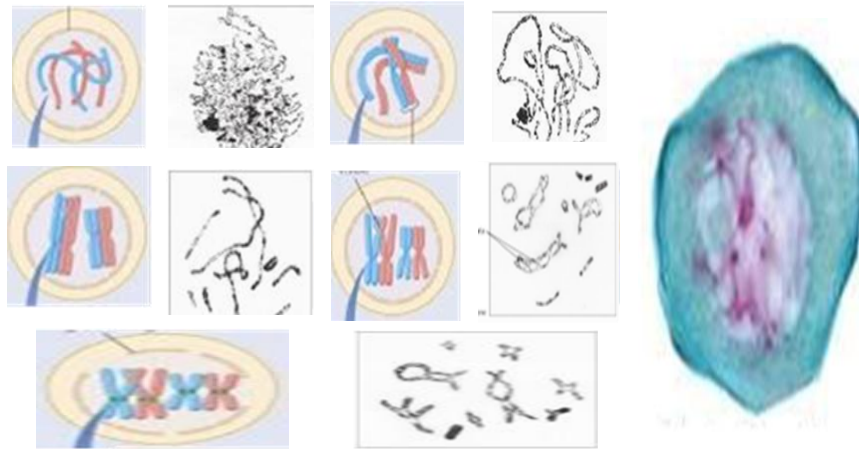
Telophase II

٤- الطور النهائي الثاني

يبدأ انقسام السيتوبلازم - تتكون اربع خلايا بنوية من كل خلية امية تحتوي كل منها على نصف العدد الكروموسومي في الخلية الامية.

Meiotic Division I stages

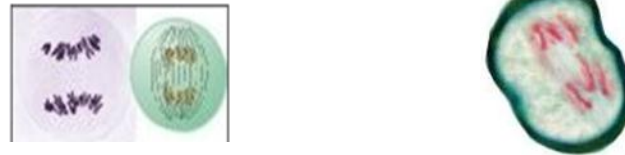
Prophase I stage



Metaphase I stage



Anaphase I stage



Telophase I stage



Meiotic Division II stages

Prophase II stage



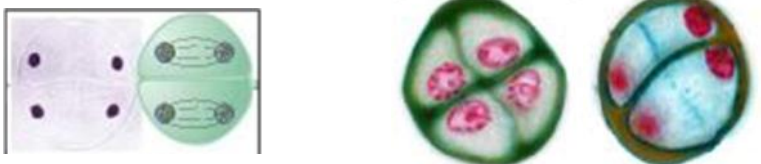
Metaphase II stage

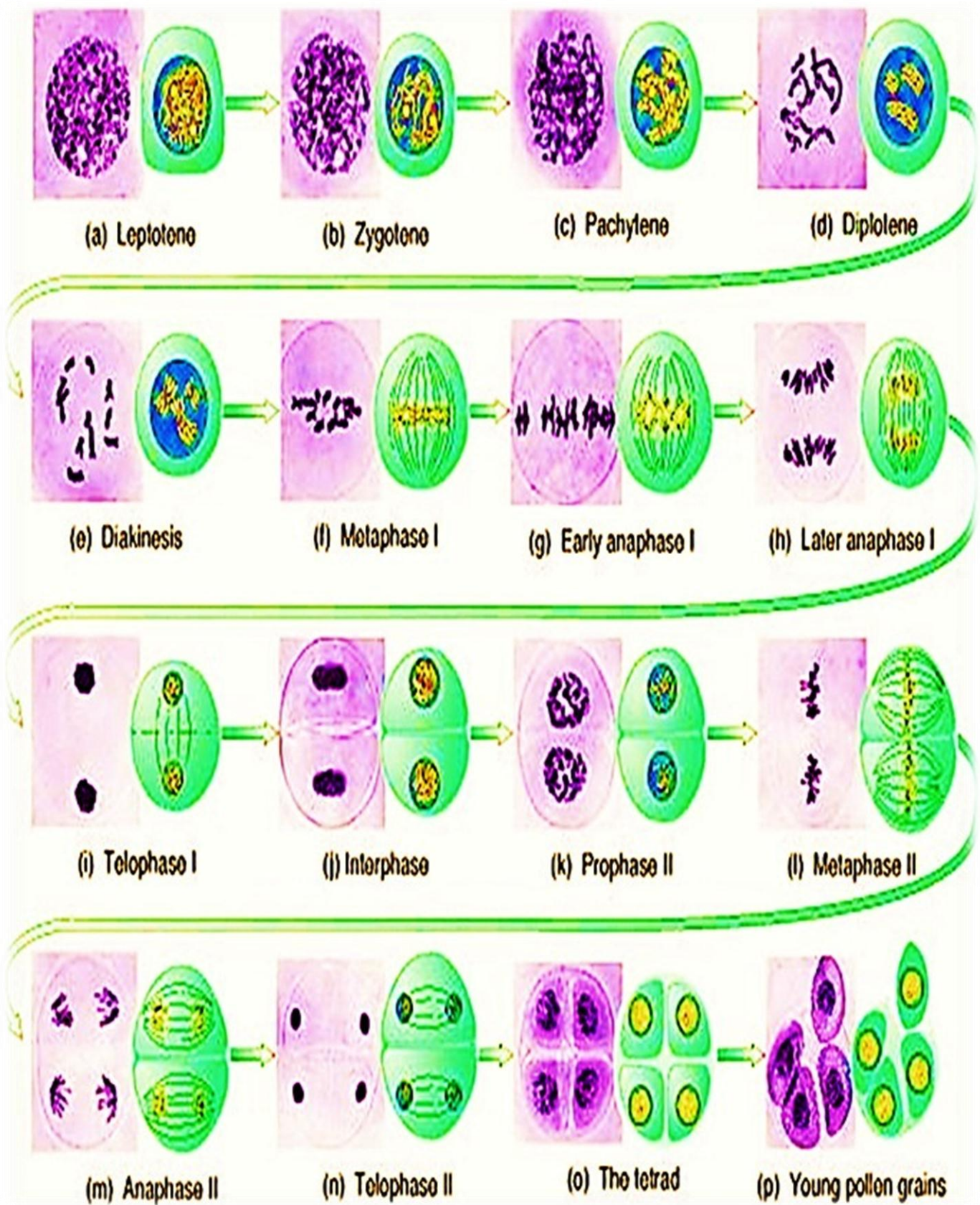


Anaphase II stage



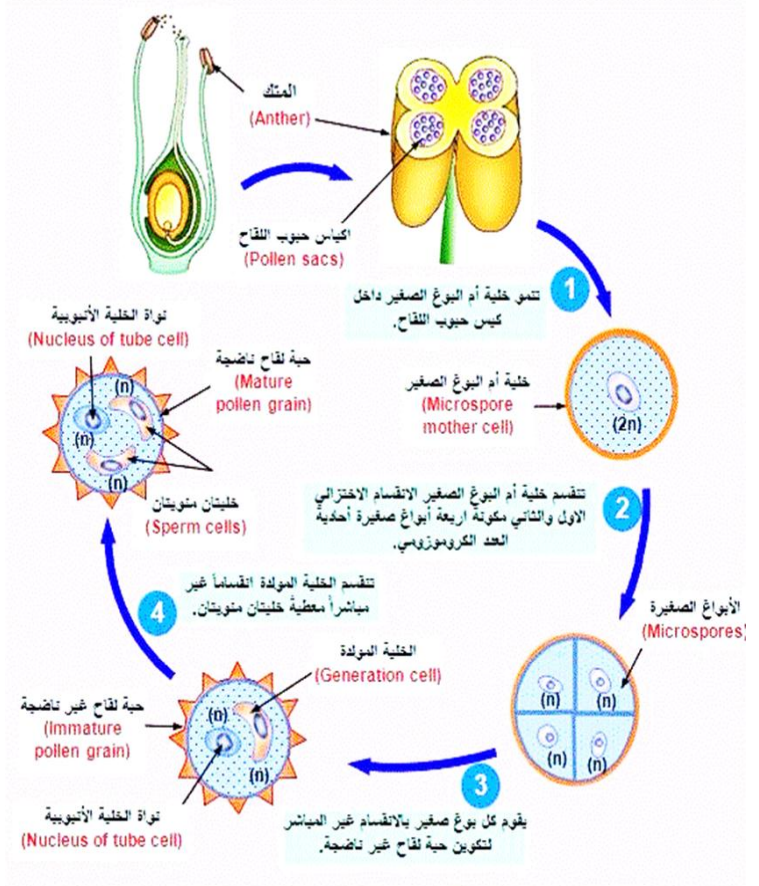
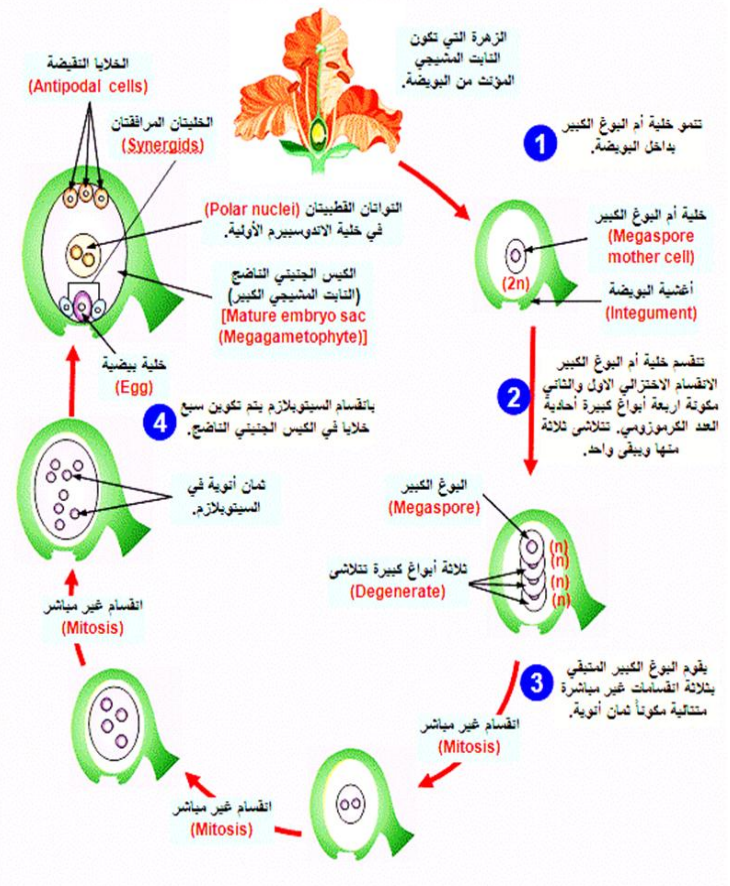
Telophase II stage





- يحدث تكوين الكيس الجنيني في مبيض الازهار حيث يوجد بها الخلايا الامية.
- الانقسام الميوزي للخلايا الامية يحدث في اتجاه واحد وليس اتجاهين متعادين.
- ينتج من الانقسام الميوزي 4 انوية متراسة في صف واحد linear تسمى الجراثيم الضخمة megaspores.
- تضرر الانوية الثلاث القريبة من فتحة النقيز.
- تنضخ النواة الباقية والموجودة في الطرف الكلازي Chalazal end.
- تنقسم النواة الكلازية ميتوزيا الى نواتين تتوجه كل منهما الى طرف الخلية.
- تنقسم كل نواة ميتوزيا الى نواتين ليتكون اربع انوية تقبع كل اثنان منهما عند طرف الخلية.
- تنقسم كل نواة مرة اخرى ميتوزيا ليتكون ثمانى انوية تقبع كل اربع منها عند طرف الخلية.
- تتحرك نواة واحدة من كل طرف للخلية الى مركز الخلية وتعرفان بالنواتين القطبيتين polar nuclei .
- احد الانوية القريبة من الطرف النقيري micropylar end تحيط نفسها بكمية كبيرة من السيتوبلازم وتكون الخلية البيضية Egg cell.
- النواتين المجاورتين لخلية البيضة تحيط كل منهما نفسها بكمية من السيتوبلازم وتكونان الخلايا المرافقة synergids cells.
- الانوية الثلاث في الطرف الكلازي تحيط كل منهم نفسها بكمية من السيتوبلازم لتكون ثلاث خلايا كلازية chalaza cells.

- يحدث تكوين حبوب اللقاح في متك الازهار حيث يوجد بها خلايا المتك الامية Pollen Mother Cells.
- الانقسام الميوزي لخلايا المتك يحدث في اتجاهين متعادين.
- ينتج من الانقسام الميوزي لخلايا المتك الامية 4 انوية تحاط كل منها بكمية من السيتوبلازم.
- يحدث تخثر في الغشاء البلازمي ويحيط بكل نواة لتكوين اربعة خلايا تسمى رباعيات Tetrads وتنفصل عن بعضها.
- تنضج هذه الخلايا من خلال: انحلال الطبقة الوسطى Middle Layer و الطبقة المغذية Tapetum Layer من المتك لتغذية حبوب اللقاح.
- تكون حبة اللقاح الجدار الخارجي Exine وبه ثقب خاصة بانبات حبة اللقاح وخروج الانبوبة اللقاحية.
- تكون حبة اللقاح الجدار الداخلي Entine.
- انقسام نواة حبة اللقاح ميتوزيا الى نواتين خضرية Vegetative وجنسية Generative.
- تنقسم النواة الجنسية ميتوزيا الى نواتين جنسيتين.



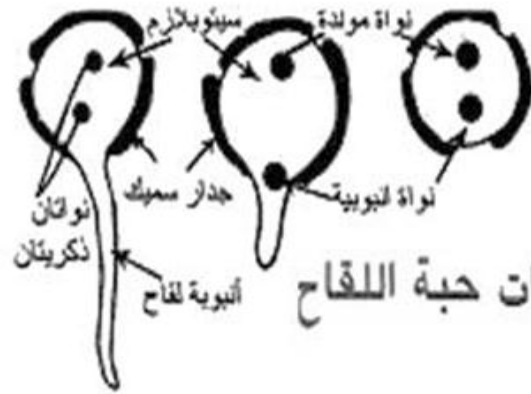
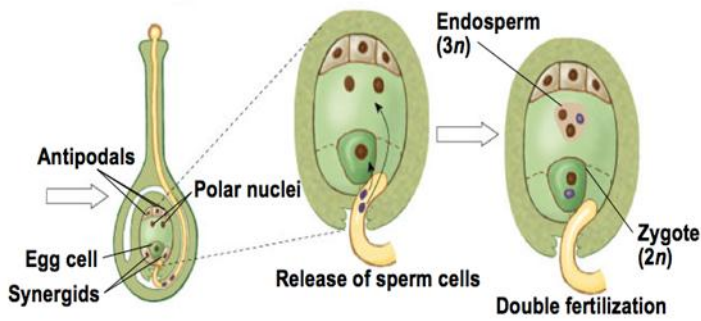
التلقيح و الاخصاب ونمو الجنين في نبات الذرة

التلقيح هو وصول حبة اللقاح من المتك إلى مياسم الأزهار.

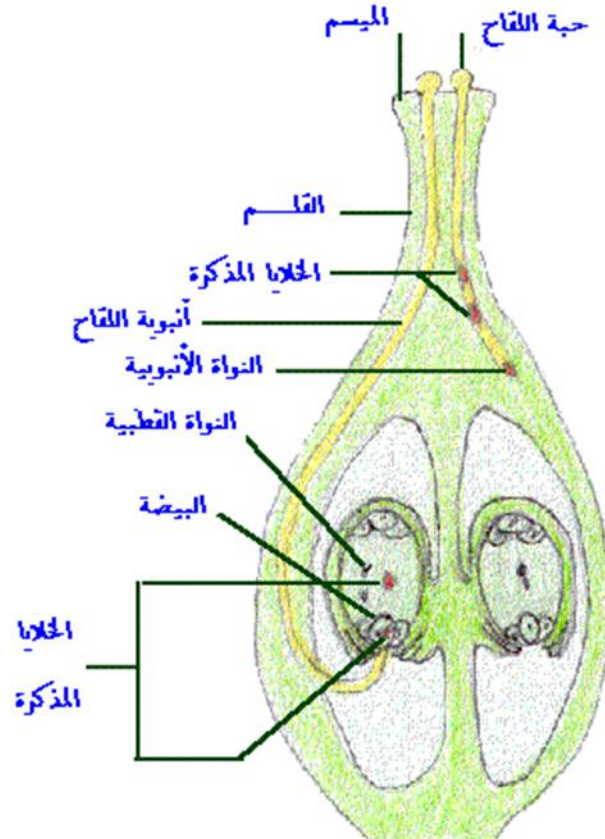
الاخصاب هو اندماج النواة المذكرة مع النواة المؤنثة و يلي مرحلة التلقيح ولكي يحدث الاخصاب يجب المرور بعدة مراحل هي:

- نمو الانبوبة اللقاحية داخل القلم وتحرك النواة الجنسية من خلالها.
- اختراق الانبوبة اللقاحية للكيس الجنيني.
- حدوث الاخصاب المزدوج Double Fertilization بين احد النواتين الجنسيين والخلية البيضية لتكوين خلية الزيجوت Zygote ثنائية العدد الكروموسومي $2n$ واتحاد النواة الجنسية الاخرى مع النواتين القطبيتين لتكوين نواة الاندوسبيرم الثلاثية.
- ضمور الخلايا الكلازية.
- انقسام خلية الزيجوت ميتوزيا لتكوين الجنين.
- انقسام نواة الاندوسبيرم لتكوين نسيج الاندوسبيرم.

Double Fertilization



مراحل انبات حبة اللقاح



تحضير شرائح لدراسة مراحل الإنقسام الميوزي (الاختزالي)

تستخدم البراعم الزهرية في نباتات ذوات الفلقتين او الخلايا البوغية المذكورة في النجيليات لدراسة الإنقسام الميوزي.

الادوات والمواد المستخدمة

اطباق بتري - ورق ترشيح - شرائح ميكروسكوبية - غطاء شرائح - ميكروسكوب - ابرة - مشرط - ملقاط.

كحول ايثيلي - حامض خليك ثلجي - كلوروفورم - حامض هيدروكلوريك - صبغة كروموسومات - بوتاسيوم ميتابايسلفيت - فحم.

طريق تحضير المحاليل

- ١- محلول كارنوي : ٣ كحول ايثيلي ٩٥% : ١ حامض خليك ثلجي. و يحضر مباشرة قبل عملية القتل.
- ٢- محلول فارمر : ٦ كحول ايثيلي ٩٥% : ٣ حامض خليك ثلجي : ١ كلوروفورم. و يحضر مباشرة قبل عملية القتل.
- ٣- صبغة فولجين : ١ جم فوكسين + ١٠٠ ملل ماء مقطر مغلي مع الرج للاذابة - ترشح في زجاجة بنية - يضاف ٣٠ ملل من محلول ١ N من حامض هيدروكلوريك - يضاف ٣ جم من بوتاسيوم ميتابايسلفيت - توضع في مكان مظلم عند درجة حرارة الغرفة لمدة ٢٤ ساعة - يضاف ١ جم فحم - ترج جيدا - ترشح في زجاجة بنية - تخزن عند درجة ٢ درجة مئوية. و تكون الصبغة عديمة اللون.
- ٤- صبغة الاسيتوكارمن : ٢ جم من صبغة الكارمن + ١٠٠ ملل من حامض خليك ثلجي ٤٥% تغلى لمدة ٢ دقيقة و تبرد وترشح في زجاجة بنية.
- ٥- صبغة الاوراسين : ٢.٢ جم من مسحوق الاوراسين + ١٠٠ ملل حامض خليك ثلجي و تغلى ببطء و تبرد وتحفظ في زجاجة بنية. عند الاستعمال تخفف الي تركيز ٤٥% ثم ترشح.

طريقة العمل

- ١- مرحلة الجمع sample collection: تجمع البراعم الزهرية بعد تكشفها.
 - ٢- مرحلة القتل والتثبيت killing and fixation: توضع العينات في محلول كارنوي او محلول فارمر لمدة ٢٤ ساعة - تغسل العينات بالماء من ٢ - ٣ مرات. و يمكن حفظ العينات في الثلاجة بعد وضعها في كحول ٧٠% لحين الإستعمال.
 - ٣- مرحلة الصباغة staining: توضع المتك في صبغة خاصة بصبغ الكروموسومات فقط أي مادة ال DNA لمدة ٤ ساعات.
 - ٤- مرحلة الافرد spread: تقطع المتك عرضيا الى نصفين - تدفع الخلايا الموجودة في كل نصف خلال الفتحة بواسطة الضغط بآبرة على الطرف المسدود من نصف المتك - يزال ما تبقى من المتك - يتم الضغط برفق بواسطة غطاء الشريحة.
 - ٥- مرحلة الفحص Examination: تفحص العينة بواسطة الميكروسكوب بالقوة الصغرى ثم القوة الكبرى
- لعمل شريحة دائمة تمرر العينات في محاليل من الكحول الايثيلي بتركيزات ٣٠% - ٥٠% - ٧٠% - ٩٥% - ثم محلول من كحول ايثيلي مطلق و زيلول بنسبة ١:١

تجفف الشريحة ويوضع عليها نقطة من كندا بلسم وتترك في الفرن عند ٢٥ درجة مئوية لتجف.