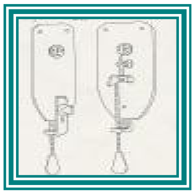
المجاهر وأنواعها

تنقسم المجاهر بصفة عامة إلى مجموعتين :

أولاً : المجاهر البسيطة (البدائية)

ثانياً : المجاهر المركبة (المتقدمة)



مجهر لوفينهوك البسيط

أولاً أنواع المجاهر البسيطة هي

١- مجهر ليفينهوك leevwenhoek Microscope

٢ – عدسة الساعاتي Watchmaker lens

٣ – عدسة الجيب pocketlens

٤- – عدسة اليد Hand lens

٥- عدسة الطاولة . Table lens

عدسة الساعاتي

ثانيا المجاهر الضوئية المركبة

Optical Compound Microscope

وتختلف هذه المجاهر في الشكل ولكن تترك في صفة واحدة وهي أن لها جهاز بصري مكون من نوعين من العدسات .

أ – عدسات شيئية وهي التي تكون في مواجهة الشيء المراد فحصه .

ب- عدسات عينية وهي التي تنظر العين من خلالها .

توجد أنواع كثيرة من المجاهر المركبة وأشهر هذه الأنواع هي .

أ – المجهر مضيء الحقل – ب – المجهر مظلم الحقل – ج – مجهر الطور المتباين – د – المجهر الفلورسيتي –

هـ – المجهر المقلوب – و – المجهر متداخل الضوء .

المجهر الضوئي : يتركب من الأجزاء الآتية :

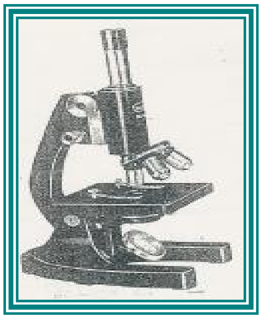
الأجزاء الميكانيكية هي : قاعدة الميكروسكوب – العمود – القطعة الأنفية –الذراع – الأنبوب –

مسرح الميكروسكوب – الضابط الدقيق – الضابط الرئيسي – الأنبوبة المنزلقة –

الأجزاء البصرية هي : المرآة – المكثف – الحاجز القز حي .

العدسات الشيئية وتكون كالآتي :

عدسة شيئية صغرى – عدسة شيئية متوسطة – عدسة شيئية كبرى – عدسة زيتية



شكل يوضح مجهر مركب وحيد العينية

العدسات العينية

ويتم حساب قوة التكبير في المجهر الضوئي كما يلي

قوة التكبير = قوة تكبيرة العدسة العينية × قوة تكبيرة العدسة الشيئية .

المجهر الفلوريسيني Fluorescence Microscop

ويتركب هذا المجهر من :

*مصدر إضاءة مهيج وقوي جداً * عدسة مكثفة لتجميع الضوء الصادر من المصباح الزئبقي * مرشح ضوئي يسمح بنفاذ شعاع واحد * مرآة عاكسة تعكس شعاع الضوء * عدسة مكثفة تقوم بتكثيف الشعاع الضوئي *مسرح المجهر وعليه العينة

المصبوغة بصبغة تتهيج * عدسة شيئية تعمل على تكبير الشعاع الصادر من العينة * عندما تصطدم الأشعة الضوئية بالأجسام المصبوغة بصبغة فلورسيين يصدر منها إشعاعات ذات طول موجي كبير – * مرشح يمنع نفاذ الأشعة ذات الطول ألموجي القصير لأنها تؤدي إلى أحداث أضرار بالعين * عدسة عينية والتي يمكن بها رؤية العينة •

ميكانيكية الرؤية بواسطة المجهر الفلوريسيني :

* عندما ينبعث الضوء المتوهج من المصباح الزئبقي يمر خلال عدسة محدبة مجمعة يحمل جميع ألوان الطيف
* يمر هذا الضوء خلال مرشح يمنع مرور ألوان الطيف ذات الطول ألموجي القصير ما عدا اللون الأزرق •
* عندما تصطدم الأشعة الضوئية بالأجسام المصبوغة بصبغ فلورسيين يصدر منها إشعاعات ذات طول موجي كبير
* تمر الموجات ذات الطول الكبير إلى العدسة الشيئية وتنفذ منها إلى مرشح يسمح بمرور الأشعة ذات الطول الكبير
* تمر الأشعة ذات الطول ألموجي الكبير فيمكن استقبالها على كاميرات •

المجهر الالكتروني النافذ Transmission Electron Microscopy (TEM)

وفد أصبح المجهر الإلكتروني في بداية الخمسينات أداة مهمة في فحص مكونات الخلايا ولكن تاخر استخدامه في مجال الأنسجة ويرجع السبب إلى انعدام إمكانية الحصول على قطاعات رقيقة يستطيع عاع الإلكترونات اختراقها

نظرية عمل المجهر الإلكتروني :

عند مرور تيار كهربائي تبلغ شدته ٥٠٠٠٠ فولت خلال فتيل فإن هذا الفتيل يسخن بقوة وينبعث منه شعاع الإلكترونات يبلغ الطول الموجي لها ٥٠' ، انجستروم وهذا الطول يبلغ ١٠٠٠٠٠من الطول ألموجي فإن القوة الإيضاحية للمجهر الإلكتروني تبلغ 05 ، ˚A

تركيب المجهر الالكتروني :

شكل يوضح المجهر الالكتروني النفاذ

مصدر الإضاءة Electronic gun

وهو عبارة عن فتيل معدني مكون من سلك صغير على شكل V وتعرف أحياناً بالمهبط أما المصعد فهو عبارة عن قطعة معدنية دائرية الشكل بها ثقب صغير لمرور شعاع الإلكتروني •

العدسات الإلكترونية Electronic lens

تتركب من سلك ملفوف آلاف المرات على أنبوبة ويمد فيها تيار كهربي تصل كميته إلى ١ أمبير •وفي المجهر الإلكترونية زادت عدد العدسات فهناك عدستان مكتفتان ، أربع عدسات عينية بالإضافة إلى عدستين متوسطتين بين العدسة الشيئية وعدسة الإسقاط وقوة تكبير المجهر تتراوح بين ١٠٠ ، ٠٠٠ ' ٢٠٠ يغلق الجهاز بأنبوب محكم قوي ويتم تفريغ الهواء بصفة مستمرة حتى لايحترق الفتيل •

المجهر الإلكتروني المساح Scanning Electron Microscope

الشكل العام للمجهر الإلكتروني : عبارة عن عمود يشبه الموجود في المجهر الإلكتروني ويحتوي على مدفع الإلكترونات وعدسات مكثفة لتكوين حزمة ضيقة من الإلكترونات والتي يمكن أن تمسح دائرة قطرها ٥ نانو ميتر الإلكترونات الثانوية المنبعثة من الجسم ينتج عنها خيال للعينة ويتم تجميع هذه الخيالات بواسطة مجمع يسقط الصورة على شاشة الفحص وهذا الخيال يمكن استقباله على فيلم حساس للتصوير •

الشكل العام للمجهر الالكتروني المساح

تعتمد قدرة التبيين في المجهر المساح على عدة عوامل منها :

١- طبيعة العينة المفحوصة ٢- قوة شعاع الإلكترونات ٣- سرعة المسح ٤- عدد خطوط الخيال المتكون

وبصفة عامة فإن المجهر المساح يناسب دراسة الأسطح الصلبة والصماء •

طرق تحضير الكائن الحي كاملا وهي ...

١ - الذبح ٢ - التنخيع ٣ - الضرب على مؤخر الرأس ٤ - التخدير

طرق الحصول على العينات من الكائن

شكل يوضح طريقة التنخيع في الضفدعة

١- محلول كحول ١٠٪ : ويصلح مع الهيدرا والتريللا ريا (ديدان البلاناريا)

٢- كبريتات الماغنسيوم : ويستعمل في تخدير الحيوانات اللافقارية التي تعيش في الماء المالح

٣- المنتول (زيت النعناع) : وينصح باستعماله مع الحيوانات الجالسة سواء التي تعيش في الماء المالح او العذب ٤- كلورال هيدرات : ويستعمل مع الهيدرا والتريللاريا والديدان المفلطحة .

٥- بخار الايثير : ويستخدم مع الحشرات والعناكب والعقارب وكذا الفقاريات التي تعيش على اليابسة .

٦- كلوريتون (اسيتون + كلورفورم) : ويستعمل مع اللافقاريات بصفة عامة .

٧- الاختناق : وتستخدم هذه الطريقة مع القواقع البطنقدميات .

٨- في حالة الثدييات الكبيرة مثل القطط والكلاب :

التثبيت والمثبتات:

شكل يوضح طريقة فصل الرأس في مستوى لمخيخ في الضفدعة

أن المثبت الجيد هو الذي يحقق الأهداف التالية ...

١ - أن يتخلل النسيج بسرعة حتى يمنع التحلل .

٢ - يحول مكونات النسيج الحيواني إلى مواد غير ذائبة .

٣- يحمي جسم العينات من الانكماش والتشوه .

٤- يزيد من درجة الصلابة في جسم الكائن .

٥- تحسين معامل الانكسار .

أنواع المثبتات

مثبتات مجلطة أو مخثرة
Coagulant Fixaticves

وهذه المثبتات تحول التراكيب الروتينية إلى تراكيب متجلطة ومعتمة وكذا تحول الأنزيمات إلى كتل معلقة في سائل التثبيت ومن أشهر المثبتات المجلطة .

الكحول الإيثيلي **C2H5OH**

* يسبب انكماش نسبي في النسيج .
* يعمل على تحطيم الميتوكوندريا .

مثبتات غير مجلطة وغير مخثرة
Noncoagulant Fixatives

تحفظ التراكيب الروتينية على طبيعتها ولا تسبب انكماش في الأنسجة وتحفظها في شكل جيلا تيني شبكي وتبقى على الكل العام في صورة أقرب ما تكون للطبيعة ومن أشهر المثبتات الغير مجلطة

الفورمالدهيد **HCHO**

* سريع النفاذ ويكسب العينة صلابة .
* رخيص الثمن ويباع بتركيز ٤٠ ٪

- يذيب الدهون في الأنسجة ·
- يمتاز بنفاذية سريعة نسبياً ·
- يستعمل بتركيز ٧٠٪ ·

كلوريد الزئبق HgCL2

- يمتزج مع الماء بسهولة شديدة ·
- سام جدا وقليل الذوبان في الماء ·
- يسبب انكماش بسيط في العينة ·
- له سرعة نفاذية متوسطة ·
- يجعل العينة صلبة جداً ·

ثالث أكسيد الكروم Cr2O3

- يذوب في الماء بسهولة ويستعمل بتركيز ٥،٠٪
- ذو سرعة نفاذية بطيئة ويسبب انكماشا ملحوظا في الأنسجة ·
- تكسب الأنسجة نوعا من الصلابة ·

- يستعمل كمثبت عند تركيز ١٠ ٪
- لا يؤثر على شكل النواة ويسهل صبغ الخلايا بالمصبغات القاعدية ·

حمض الخليك CH3COOH

- سريع النفاذ ويثبت الأحماض النووية ·
- يسبب زيادة في حجم الخلايا لذا يضاف للمثبتات التي تسبب انكماش للخلايا ·
- لا يحدث أي تغيرات في شكل النسيج ·

ثاني كرومات البوتاسيوم K2Cr2O7

- عبارة عن بللورات برتقالية اللون تذوب في الماء بنسبة ١٠٪
- يحافظ علي طراوة الأنسجة ·
- لا يسبب أي تغيير في الشكل العام للأنسجة

المثبتات المجلطة الأولية primry Coagulant Fixatives

١- الكحول الأيثيلي (الايثانول) Etlyl Alcohol C2H5oH

- سائل عديم اللون يمتزج بشكل جيد مع الماء ·
- يسبب انكماش نسبي للنسيج الخلوي وله سرعة نفاذ معتدلة ويكسب النسيج صلابة كافية ·
- يذيب الدهون ويحطم الأجسام السبحية (الميتوكوندريا)

٢- كلوريد الزئبق Mercuric Chloride HgC12

- بللورات إبرية عديمة اللون قليلة الذوبان في الماء ·
- سام جداً ويذوب في البترين والكحول الايثيلي ·
- له سرعة نفاذ متوسطة ويسبب انكماشا طفيفا للنسيج ·
- يترسب على النسيج في صورة باللورات يمكن ازالتها بمحلول ٧٠٪ كحول مذاب في بعض اليود ·

٣- ثالث أكسيد الكروم Chromium Trioxide Cro3

- بللورات بنية اللون بسهولة في الماء ·
- يمتاز بسرعة نفاذ بطيئة ويسبب انكماشا ملحوظا في العينة ·
- يكسب العينة نوعا من الصلابة ويستخدم بتركيز ٥ ، ٠٪ ·
- ينبغي غسيل العينة جيداً بعد عملية التثبيت ·

المثبتات الأولية الغير مخثرة primry Noncoagulant Fixatives

١- الفور ما لدهيد Formaldhyde HCHO

- غاز عديم اللون ويذوب في الماء بنسبة ٤٠ ٪ ليكون مايعرف بالفورمالين
- يكسب النسيج صلابة قوية مع عدم التأثر على الخلايا ٠
- يستعمل كمثبت بنسب من ٥ – ١٠ ٪ ٠
- يعتبر مناسب لتثبيت الدهون والجليكوجين والميتوكوندريا ولا يوثر على شكل النواة ٠
- يمتزج مع الماء والكحول الايثيلي بسهولة شديدة ٠
- مادة التثبيت من ٢٤ – ٤٨ ساعة ٠

٢ – رابع أكسيد الازميوم Osmium tetroxid OSO_4

- عبارة عن بللورات صفراء تذوب في الماء بنسبة ٧٪ ٠–
- سام والأبخرة المتطايرة منه تؤ ذي النسيج ألطلائي للعين والأنف والفم ٠
- يستعمل كمحلول مائي بنسبة ١٪ ويمتاز بسرعة نفاذ بطيئة نسبيا ٠
- لا يسبب انكماش في حجم العينة وله القدرة على حفظ التراكيب الخلوية ٠
- الأنسجة والخلايا المثبتة به تتفاعل مع الأصباغ القاعدية فقط ٠

٣- ثاني كرومات البوتاسيوم potassium dichromate $K_2Cr_2O_7$

وهو عبارة عن بللورات برتقالية اللون تذوب في الماء بنسبة ١٠٪ وتستعمل كمثبت على كل محلول مائي تركيزه ٥ ، ١٪

- لا يسبب أي انكماش او تغير في الكل العام للخلايا ٠
- يترك الأنسجة في حالة طرية ولا يسبب أي جفاف فيه ٠
- لا يستعمل عند الرغبة في دراسة الأنوية او الكروموسومات ٠

٤- حمض الخليك Glacial acetic acid

- سائل عديد اللون ذو رائحة نفاذة يمتزج جيداً مع الماء والكحول ٠
- سريع النفاذية ويثبت الأحماض النووية ٠
- يسبب زيادة ملحوظة في حجم الخلايا لذا يستعمل مع المثبتات البطيئة ٠
- لا يحدث أي تغيرات خلوية ولا يؤثر على صلابة النسيج ٠

غسيل العينة

Washing ofspecimen

غالباً يتم غسيل المثبت بواسطة الماء المقطر او الصنبور الابعض المثبتات ينبغي معها مراعاة ما يلي

- العينة المثبتة في الفورمالين يمكن غسلها بسهولة بالماء المقطر او حتى بالماء الجاري ٠
- العينات المثبتة في مثبت زنكر يجب غسلها في كحول ٩٦ ٪ مشبع باليود لإزالة الزائد من كلوريد الزئبق
- في حالة التثبيت بثالث أكسيد الكروم وثاني كرومات البوتاسيوم تغسل العينات بالماء الجاري

إزالة الماء

Dehydration

تتم عملية نزع الماء من العينة كما يأتي :

١- تمرر العينة بعد الغسيل في كحول تركيز ٣٠ ٪ ٠

٢- تمرر العينة بعد الغسيل في كحول تركيز ٥٠٪ ٠

٣- تمرر العينة بعد الغسيل في كحول تركيز ٧٠٪ ٠

٤- تمرر العينة بعد الغسيل في كحول تركيز ٨٠ ٪ ٠

٥- تمرر العينة بعد الغسيل في كحول تركيز ٩٠ ٪ ٠

٦ – تمرر العينة بعد الغسيل في كحول تركيز ٩٥ ٪ ٠

٧ - تمرر العينة بعد الغسيل في كحول تركيز ١٠٠ ٪ ٠

وتكرر هذه الخطوة مرتين بمعدل ٥ دقائق لكل مرة وبذلك يتم غزالة الماء تماماً وتصبح العينة جاهزة لإجراء عملية االترويق ٠

ترويق العينة

Clearing of Specimen

الترويق هو عملية وسيطة بين نزع الماء بالكحول وعملية الطمر في الشمع وحيث أن الكحول لا يمتزج بالشمع فلا بد من إمرار العينة لوقت كافي في سائل وسيط يذوب في كلا من الكحول والشمع ٠

أهم أوساط الترويق هي ٠٠٠

* الزيلول * البنزين * التولوين * زيت الأرز * التيربينيول * زيت القرنفل

تخليل أو تشريب العينة

Lmpregnation of Specimen

تتم عملية التشريب بتمرير العينة على مخلوط مكون ٧٥ ٪ زيلول و ٢٥٪ شمع بارا فين ، ثم مخلوط من ٥٠ ٪ زيلول و ٥٠ ٪ شمع بارا فين ثم مخلوط من ٢٥ ٪ زيلول و ٧٥ ٪ شمع بارا فين واخيراً في شمع نقي بنسبة ١٠٠ ٪ ٠

ومن العينات التي تحتاج إلى زمن طويل في التشريب الخصية والديدان الطفيلية مثل الفاشيولا والإسكارس

وبصفة عامة فإن شمع البراقين يعتبر وسط مثالي للتخليل في غالبية الدراسات النسيجية والهستوكيميائية حيث أنه رخيص الثمن ومثالي في الدراسات المعملية ٠

طمر العينة

Embedding of Specimen

المقصود بعملية الطمر هو إحتواء العينة في بلوك شمعي صلب تمهيدا لعملية التقطيع ٠

خواص شمع البارافين ٠٠٠

* الشمع المستخدم في عملية الطمر هو شمع البارافين ويتمز بأنه رخيص الثمن وأنواعه هي ٠

أ – الشمع الطري أو اللين

ب– الشمع الصلب

تقطيع العينة

Sectioning

تتم عملية تقطيع البللوك الشمعي بواسطة جهاز الميكروتوم والذي تثبت عليه العينة ثم تجرى عليه تقطيع البللوك إلى قطاعات يتراوح سمكها من ٥ – ٧ ميكرون ٠

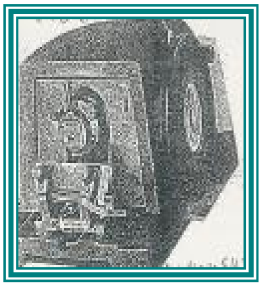
أنواع الميكروتومات

* الميكروتوم الشمعي
* الميكروتوم الثلجي *
* ميكروتوم التقطيع البارد أو الكربوستات

اولاً: الميكروتوم الشمعي

Paraffin Microtome

لتقطيع العينة يثبت ماسك القالب الشمعي خلف مكان السكين ثم توضع سكين القطع وتثبت جيدا بواسطة المسامير ولصيانة الميكروتوم يجب أن يحفظ داخل العلبة الخاصة به ويجب مراعاة تنظيفه تماما من بقايا الشمع وذلك باستخدام فرشاة وقطن مبلل بالزيللول ٠



الميكروتوم الدوار

أنواع الميكروتومات الشمعية ٠٠٠

١– ميكروتوم كامبردج الهزاز

٢– الميكروتوم الدوار

٣– ميكرتوم الانزلاق

٤– الميكروتوم ذو القاعدة المنزلقة

ثانيا : الميكروتوم الثلجي

Freezing Microtome

ويتم به تقطيع العينات التي يراد عدم تعرضها لدرجات حرارة عالية او مرورها على مذيبات الدهون ٠

ثالثاً : الكريوستات

The cryostat

يستخدم هذا الجهاز في مجال كيمياء الأنسجة ويشبه هذا الميكروتوم الميكرتوم الثلجي ولكن يختلف في ان مكوناته تقع داخل غرفة التقطيع ٠

الميكروتوم الثلجي

سكين الميكروتوم : Microtome knife

يصنع سكين الميكروتوم من الصلب متوسط القارة ويجب أن تكون السكين ثقيلة ويفضل السكين السميك

الرقيق ٠

أشكال السكاكين متعددة وهي ٠٠٠

نوع سكاكين الميكلروتوم

أ – سكين نصف وترية لها حافة مستقيمة وأخرى مائلة ٠

ب – سكين وتدي ذات حافتين مائيلتين ٠

ج – سكين ذو حافة مستوية وأخرى مقعرة ٠

د – سكين مقعر من الناحيتين ٠

العناية بسكين الميكروتوم تلزم مراعاة ما يلي :

١– تثبت ماسك القالب الشمعي إلى الخلف بعيدا عن مكان سكين الميكروتوم ٠

٢– تنظيف السكين بقطعة قطن مبللة بالزيلول أول بأول ٠

٣– الحذر من أن يصطدم السكين بأي جسم صلب أو جسم آخر حاد فتفقد حدتها بسهولة ٠

٤– شحذ السكين على فترات مناسبة ٠

٥– المحافظة على السكين بعد الاستعمال وذلك في وضعها في صندوق خشبي او بلاستكي مبطن من الداخل بالقطن ٠

شحذ سكين الميكرتوم **Sharpening of knife Microtome**

يتم شحذ سكين اليكرتوم بالطرق الآتية ٠٠٠

١– الشحذ على الحجر

٢– التجليخ بالحزام الجلدي

٣– في المعامل والمستشفيات الكبيرة

تثبيت القالب الشمعي على ماسك الميكروتوم :

تجب تشذيب القالب الشمعي وإزالة الشمع الزائد منه من جميع الجهات وبعد إجراء عملية التشذيب يصبح القالب الشمعي جاهزا للتثبيت في ماسك الميكروتوم بالطريقة الآتية :

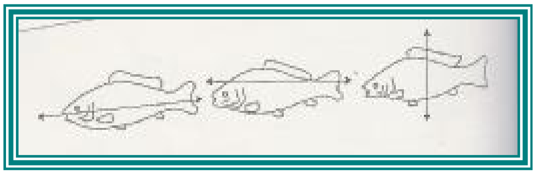
١– يتم تسخين قاعدة القالب الشمعي بقضيب معدني ٠

٢– توضع نقاط من الشمع المنصهر على قاعدة الماسك وبسرعة يتم لصق قالب الشمع في ماسك الميكروتوم

٣– يوضع الماسك المثبت عليه القالب الشمعي في مادة باردة لمدة دقيقتين حتى يتجمد الشمع تماماً ٠

طريقة تقطيع العينات : Sectioning procedure

اتجاهات قطع العينات :



* قطاع عرض
* قطاع جنبي
* قطاع سهمي

وكثيرا ما يظهر عيوب في أثناء عملية التقطيع ومن هذه العيوب :

اولا : القطاعات المتتالية لاتلصق مع بعضها لتكون شريطا شمعيا ٠

ثانيا : شريط القطاعات متقوس

ثالثا : القطاعات غير متساوية الأبعاد

رابعا : القطاعات منتفخة في الوسط

خامسا : العينة داخل القطاع تسقط او تتكسر

سادسا : شمع القالب يتفتت

سابعا : الشريط ينشق في الوسط

Stains الأصباغ

إن معظم الأصباغ التي تستخدم في علم الأنسجة عبارة عن شقين حامضي وقاعدي ولكي تؤدي الصبغة مفعولها لابد من تفككها في وسط مائي الى شق حامضي وآخر قاعدي ٠

أنواع الصبغات

* صبغة حمضية **Acidic Stains**
* صبغة قاعدية **Basic Stains**
* صبغة متعادلة **Neutral Stains**

وهناك عدة طرق لتلوين الأنسجة بالصبغات المختلفة حتى يمكن فحصها ومن هذه الطرق ما يلي

١- صباغة الأنسجة الحية

ومن الممكن صباغة الأنسجة الحية بأحدى الطريقتين :

أ - الصباغة داخل النسيج الحي

ب - الصباغة بغمر الخلايا في الصبغ

٢ - الصبغ بالذوبان

٣ – الصبغ بواسطة تكوين المواد الملونة في النسيج بطريقة كيميائية

٤- التلوين بالتخلل أو الترسب المعدني مع الفضة

٥- الصبغ باستخدام أصباغ طبيعية أو صناعية ٠

يمكن تقسيم الأصباغ المستخدمة في علم الأنسجة إلى نوعين رئيسين :

أ - أصباغ طبيعية
Natural Dyes

* مثل الكارمين الماخوذ من إناث بعض الحشرات

* الهيماتكسلين وهو من أكثر الصبغات إستعمالا ويستخلص من خشب شجرة صغيرة في جنوب المكسيك

ب – أصباغ تخليقية
Synthetic dyes

معظم هذه الصبغات مشتق من البسترين ويتكون فيها الصبغ من ثلاث مكونات

١- حاملات اللون **Chromophore**

٢- مولدات اللون **Chromogens**

٣- مقويات اللون **Auxochromes**

بعض الصبغات الشائعة الاستعمال

أولا : الهيماتكسلين Haematoxyline

ويعتبر من أشهر الصبغات المستخدمة في صبغ أنوية الخلايا ويدخل في عمل محاليل منفردة أو ثنائية ٠

ومن المحاليل

١ – ديلافيلدهيماتكسلين **Delafield Haematoxylin**

٢ – إيرلش هيماتكلسين **Ehrlich ,Haematoxylin**

٣ – هارس هيماتكسلين **H arris Haematoxylin**

٤– هيماتوكسلين مايو **H Mayer,s Haematoxylin**

ثانيا : بعض الصبغات الحامضية

١ – الايوسين **Eosinstain**

٢ – صبغ فان جيسون **Van Gieson**

٣– صبغ مالوري الثلاثي **Mlallory Triple stain**

٤ – صبغ ماسون الثلاثي **Masson ,s trichrom Stain**

ثالثا : بعض الصبغات التي تستعمل لأغراض معملية مختلفة

١ – صبغة جيمسا **Giemsa stain**

٢– صبغة ليشمان **Leishman Stain**

٣ – الكارمين **Carmine** لصبغ الطفيليات والجليكوجين

٤ – فاست جرين **Fast Green**

٥ – أورانج (ج) **Orange**

أوساط التحميل

Mounting media

أوساط التحميل هي راتنجات طبيعية أومصنعة تمتاز بثباتها وبأنها خاملة لا تتفاعل مع القطاع وتذوب جيداً في الزيلول والتولوين وتجف بسرعة وتلتصق جيدا بالزجاج كما تمتاز بشفافية اللون ومعامل انكسارها مناسب للفحص المجهري ويتراوح بين ١,٥٣ – ١,٥٦ وهناك نوعان من أوساط التحميل كما يلي :

١. مواد تحميل صمغية (رانتجات) وتذوب بقوة في البنزيز والزيلول وهي إما طبيعية أو صناعية
٢. مواد تحميل مائية وهي محضرة من مواد كلها تذوب في الماء

- **أوساط التحميل الصمغية**

١. كندا بلسم **Canda balsam**
٢. إيو بارال **Euparal**
٣. زام **Xam**
٤. دي . بي .اكس **D.B.X**

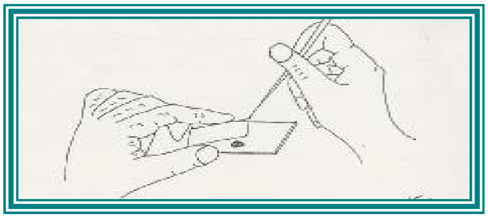
- **الأوساط المائية**

١. جلسرين جيلي **Glycerin-Jelly**
٢. مادة تحميل أباتي **Apathy mounting medium**

تغطية العينات

Covering and Mounting of Specimens

- تغسل الأغطية الزجاجية في كحول ٧٠ ٪
- توضع الشريحة في وضع أفقي بحيث يكون سطح العينة إلى أعلى
- بواسطة قضيب زجاجي تؤخذ نقطة من وسط التحميل
- إمسك غطاء زجاجي رقيق ونظيف بين الإبهام والسبابة برقة وضعه مائلاً بزاوية ٤٥ ْ وامسك طرفه الآخر بملقاط ثم أجعل الغطاء يهبط تدريجياً حتى يلتصق الغطاء الزجاجي بالشريحة وعليها القطاع
- يمكن إزالة الزائد من مادة التحميل بواسطة شفرة حادة ثم يتم مسح الشريحة بقطعة قماش مبللة بالزيلول حتى تأخذ الشريحة منظراً مثالياً
- تحفظ بعيداً عن الأتربة والغبار في علبة بلاستيكية أو خشبية محكمة الغلق على أن ترص في وضع أفقي



شكل يوضح طريقة الإمساك بغطاء الشريحة بواسطة الملقاط

طريقة تحضير القطاعات

Sectioning Method

الفرن الكهربائي المستخدم في عملية التخليل

١. قتل الحيوان والحصول على العينة
٢. تثبيت العينة
٣. غسل العينة
٤. نزع الماء من العينة
٥. ترويق العينة
٦. تخليل العينة
٧. طمر العينة
٨. تقطيع العينة
٩. تحميل القطاعات
١٠. صبغ القطاعات

تحضير التجهيزات الكاملة

Preparation of whole mounts

أولاً: التحضيرات الجافة Dry mounts

وهي تستعمل للتراكيب التي تكون جافة في الأصل وكذلك يمكن تجفيفها دون أن تتلف ومن أمثلة ذلك أصداف المثقبات (الفوار منيفرا) وأشواك الاسفنج وأشواك خيار البحر وأجنحة الحشرات والريش والشعر وكلها تراكيب جافة .

ويضاف أيضا القطاعات الرقيقة في العظام والأسنان .

ثانياً: التحضيرات والتحميلات الكاملة الرطبة Wet whol mount

وهي تستعمل للكائنات الحية صغيرة الحجم أو الأجزاء الصغيرة من الحيوانات وغالباً ماتكون هذه العينات من اللافقاريات الصغيرة أو يرقاتها وكذلك الأطوال اليرقية الدقيقة في الفقاريات .

ويمكن أن تكون هذه العينات مصبوغة أو غير مصبوغة .

تصبير الحشرات

Preserving of Insects

توجد طرق كثيرة لحفظ الحشرات وبعض هذه الطرق بسيط وسهل والبعض الآخر معقد وتختلف الطريقة كذلك من حشرة إلى أخرى ٠

طرق حفظ الحشرات

شكل يوضح تصبير الحشرة

الحشرات متوسطة الحجم تحفظ بواسطة التدبيس بعد أن تجف مثل الذباب

الحشرات الصغيرة تحفظ بواسطة وضعها على قبة قطعة من الورق المقوى على شكل مثلث مثل البعوض

الحشرات الكبيرة تحفظ أما وضعها في صندوق من الكرتون ذو غطاء زجاجي أو يتم فردها بين شريحتين زجاجيتين مثل حرشفيات الأجنحة وأبي دقيق والفراشات

الحشرات اللينة والطرية تحفظ في سوائل الحفظ المختلفة مثل الكحول الايثيلي والفورمالين مثل اليرقات دودية الشكل والعذاري والحوريات .

اولا : قتل الحشرات : Kitting Lnsects

يمكن قتل الحرات البالغة الكبيرة ومتوسطة الحجم مثل النطاط والجراد والخنافس ويتم ذلك كما يلي :

- توضع مجموعة من الحشرات في وعاء زجاجي مخصص لقتل الحشرات ويوضع معها قطنة مبللة بالكلوروفورم او الأثير ٠
- تترك الحشرات لمدة كافية لاتقل عن ٢٠ دقيقة حتى تموت ٠
- يتم تعديل وضع الحشرة في أقرب شكل ممكن لشكلها الطبيعي من حيث الوقوف او الطيران ٠

ثانيا : تنظيف العينات Cleaning of Specimens

يفضل عدم إجراء هذه العملية لعدم إيذاء الحشرة او إلحاق ضرر بها حيث ان أجراء الجسم كلها هشة ٠

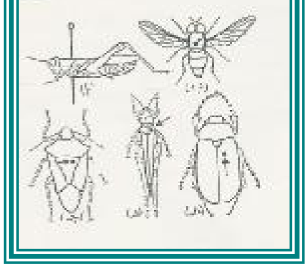
بصفة عامة فإن اسهل طريقة للتنظيف هي وضعها في محلول كحول ٧٠٪ لإزالة هذه البقايا .

حديثا تستعمل الموجات فوق الصوتية لإزالة هذه البقايا ٠

طرق التدبيس : Mechnism of Pinning

الدبابيس المعتادة لا تستخدم في عملية تدريس الحشرات لكونها إما سميكة او قصيرة او قابلة للصدأ ٠

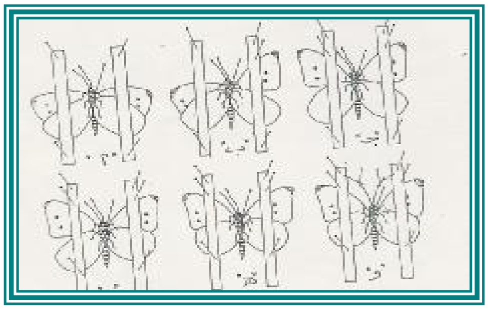
يستخدم هذا الغرض دبابيس دقيقة جدا مصنوعة من الصلب الذي لا يصدا وكذلك تكون طويلة الى حد ما



شكل يوضح الحشرات بعد عملية التدبيس

طريقة تصبير حرشفيات الأجنحة (الفراشات)

Preserving of Lepidopter

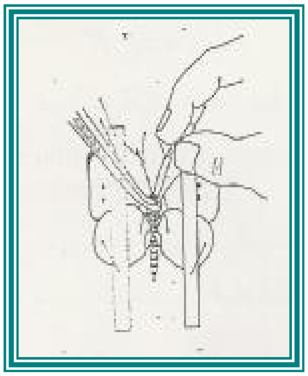


شكل يوضح طريقة تثبيت حرشفيات الأجنحة

فإن عملية التصبير تساعد في تعريفها والحصول على مزيد من المعلومات عنها ٠

خطوات فرد الحشرة

* توضع الحشرة ويكون سطحها الظهري إلى أعلى ٠
* تثبيت الحشرة برفق بدبوس في الصدر الأوسط ٠
* بواسطة أربع دبابيس وشريطين من الورق عرض كل شريط نصف سنتمتر يتم تثبيت أجنحة الحرة بشكل مبدئي ٠
* يتم تعديل أوضاع الأجنحة الأمامية والأجنحة الخلفية في أوضاع مثالية ثم يتم إضافة دبابيس أكثر لتثبيت الأجنحة بشكل نهائي



الشكل النهائي للفراشة

بعد التثبيت

* يتم تعديل قرون الاستشعار في أوضاع أقرب للوضع الطبيعي بواسطة وضعها بين دبوسين صغيرين ٠
* بواسطة ملقاط يتم نزع الدبوس من الصدر الأوسط ٠
* تحفظ الفراشة في صندوق خشبي غطاءه من الزجاج حتى يمكن رؤية الحشرة من أعلى ٠

سوائل حفظ بيض ويرقات الحشرات ومفصليات الأرجل :

الكحول الايثيلي : ويحضر كما يلي :

٧٠ مل	كحول ايثيلي
٣٠ مل	ماء مقطر
١ مل	جلسيرين

الفورمالين : ويحضر كما يلي :

٧ مل	فورمالين
٩٣ مل	ماء مقطر
١ مل	جلسيرين