

إعدادنا للظالمين :
ظلمة بين عذبة للتخويف
لأهل.....

إشعرناهم للتذكير :
حافظ فتولبي

من ترك شيئاً لله
عوضه الله خيراً منه

اللهم اجعلني خيراً مما يظنون
وإغفر لي ما لا يعلمون

.. سبحان الله و بحمده ..
.. سبحان الله العظيم ..

فإن خسرنا
فإن خسرنا
فإن خسرنا

المقدمة

الحمد لله رب العالمين، الرحمن الرحيم، مالك يوم الدين، نعبده وحده وبه نستعين، نسأله الهداية إلى الصراط المستقيم، صراط الذين أنعم عليهم، غير المغضوب عليهم ولا الضالين، اللهم آمين .. اللهم آمين أما بعد :

فهذه الوريقات قد تم إعدادها بناءً على طلب الدكتور حامد متولي .. أسأل الله أن يوفقنا لما يحب ويرضى .

طه بن عبد القيوم بن عبد الغفور السندي

..| المبحث الأول |:..

" المجاهر "

ما الذي جعل العلماء يفكرون في صنع المجهر؟! لا شك أن ذلك يُذكرنا بالحكمة القديمة ألا وهي " الحاجة أم الاختراع " ، فالعلماء كانوا يبحثون ويدرسون ، فلا بد أن اخترعوا ويتسلحوا بأشياء كي تساعدهم وتسهل عليهم دراساتهم ، فكلما تطور المجهر أكثر أدى ذلك إلى تطور أكثر في علم الأحياء وبقية العلوم التي تُستخدم فيها المجاهر .

" المجاهر على مر العصور "

المجهر أداة لتكبير الأجسام المتناهية الصغر بحيث تسهل رؤيتها. ينتج المجهر صورًا أكبر بكثير من الجسم الأصلي. ويستخدم العلماء مصطلح عِيْنَة للتعبير عن الأشياء التي تُفحص بوساطة المجهر.

يُعدُّ المجهر واحدًا من أهم أدوات العلم، فقد مكّن الباحثين من رؤية الجراثيم الدقيقة التي تسبّب الأمراض، حيث يمكن أن يُظهر المجهر عالمًا كاملاً من الكائنات الحية الدقيقة التي لا يمكن رؤيتها بالعين المجردة. ويستخدم علماء الطب وعلماء آخرون المجهر لفحص عينات كالبكتيريا وخلايا الدم. كما يُستخدم طلاب علم الأحياء المجهر للتعلم وزيادة معرفتهم عن الطحالب، والأحياء البدائية كالأميبيا ونباتات وحيوانات أخرى وحيدة الخلية. ويمكن باستخدام المجهر رؤية تفاصيل الأشياء غير الحية، كالبثورات في الفلزات والمعادن. ويؤدّي المجهر دورًا مهمًا في اكتشاف التصدعات والتشققات في الإنشاءات الفلزية، ممّا يساعد على منع وقوع حوادث خطيرة.

العالم المسلم الحسن بن الهيثم يُعتبر أول من استخدم المجهر البسيط وكان يحتوي على عدسة واحدة فقط، ثم جاء بعده العالم الإيطالي جاليليو الذي صنع مجهراً بسيطاً، ومن ثم العالم الهولندي لوفينهوك، حيث صنع مجهراً بسيطاً، ومن ثم صنع العالم الإنجليزي روبرت هوك مجهراً مركباً، حيث كان يحتوي على أكثر من عدسة، ومن ثم تتابع بقية العلماء .

" المجاهر وأنواعها "

المجاهر بشكل عام تنقسم إلى مجموعتين :

1- المجاهر البسيطة .

2- المجاهر المركبة .

وإليك بعضاً من أنواع كل مجموعة في الجدول التالي :



أولاً : المجاهر البسيطة :

1- مجهر ليفينوك :

قام ليفنهوك بصناعة مجهر خاص به و ذلك باستخدام قطع من الزجاج المكسور كعدسة و على الرغم من وجود العديد من المجاهر التي قام بصناعتها علماء آخرون في ذلك الوقت إلا أن مجهر ليفنهوك أثبت كفاءته على الرغم من بساطته فقد أمكنه أن يقوم بالتكبير 200 مرة وهي قوة تكبير لا يُستهان بها في ذلك الزمن ، مكنته من اكتشاف الكثير من الكائنات.



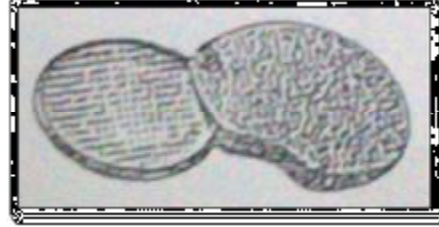
2- عدسة الساعاتي :

هي عدسة محدبة ذات سطح مستوي وقطرها 25مم وقوة تكبيرها تصل إلى خمس مرات، وهذه العدسة تكون مثبتة في أنبوب بلاستيكي قطره 25مم في القمة و 30 مم في القاعدة ويُستخدم هذا النوع من العدسات من قِبل صانعي الساعات ويتم تثبيته في العين لإصلاح الساعات .



2- عدسة الجيب :

ويتكون من عدسة محدبة الوجهين يتراوح قطرها 8-45مم وتحمل في إطار من البلاستيك أو الصلب وعادة ما يُزود بغطاء من الجلد أو المعدن المطلي للحماية وتتراوح قوة التكبير بين 5-15مرة وهذا النوع من المجاهر يُستعمل في الرحلات الحقلية حيث يُساعد في التكبير المبدئي للعينات النباتية والحيوانية والجيولوجية .



3- عدسة اليد :

لها يد طويلة للإمساك بها – كما هو موضح بالصورة – وتتواجد بقطر يتراوح بين 45-100مم وتصل قوة تكبيرها إلى 15 مرة.



4- عدسة الطاولة :

يمتاز هذا النوع بأنها محدبة الوجهين وذات قوة تكبير تتراوح من 5-15 مرة وهي كذلك ذات قطر كبير يتصل إلى 100مم ومزودة بذراع مرن قابل للثني وقاعدة ثقيلة تضمن لها الارتكاز على قاعدة سطح الطاولة ويصل قطر القاعدة إلى 150 مم وفي بعض الأنواع يتم تزويد العدسة بمصدر إضاءة كهربائي .



ثانياً : المجاهر المركبة :

هذا النوع من المجاهر أكثر تعقيداً من المجاهر البسيطة من حيث الصنع ويمتاز بقوة تكبير أعلى وتتشرك جميع المجاهر المركبة في أن لها جهازاً بصرياً مكبراً مكوناً من نوعين من العدسات :

- النوع الأول : العدسات الشيئية وتكون قريباً من الشيء المراد فحصه.

- النوع الثاني : يعرف بالعدسات العينية وهي التي تنظر العين من خلالها ويوجد منها عدة أنواع من المجاهر المركبة وهي:

- المجهر مضيء الحقل.

- المجهر مظلم الحقل.

- مجهر الطور المتباين.

- المجهر الفلورنسي .

- المجهر المقلوب.

- مجهر متداخل الضوء.

أ- تركيب المجاهر مضيء الحقل (المجهر المركب) :

1. العدسة العينية :

هي العدسة التي نرى من خلالها، وهي تقع في الجزء العلوي من الاسطوانة الصغيرة للمجهر، حيث أن قوة تكبير هذه العدسة مكتوب عليها وهي بالعادة عشر مرات (10 X).

2. الاسطوانة :

وهي الجزء الاسطواني في المجهر التي تحمل في أعلاها العدسة العينية.

3. العدسات الشيئية :

وهي مجموعة من ثلاث إلى أربع عدسات متصلة بالقرص، وتكون العدسة القصيرة منها في الغالب ذات القوة التكبيرية الصغرى (4

(X) والعدسة الشبئية المتوسطة ذات القوة التكبيرية الوسطي (10 X)، والعدسة الشبئية الكبرى ذات القوة التكبيرية العليا (40 x) ويوجد أيضاً العدسة الزيتية التي تصل قوة تكبيرها إلى 100 مرة.

ملاحظة : في حالة استخدام العدسة الزيتية يتم إضافة مادة خاصة لرؤية أوضح تسمى **oil immersion** أما بالنسبة لباقي العدسات تستخدم دون إضافة أية مواد.

4. المنضدة :
وهي السطح الذي نضع عليه الأجسام المراد فحصها ويوجد في مركزها فتحة صغيرة تسمح بمرور الضوء خلال الشريحة.
5. المكثف :
يوجد المكثف تحت فتحة المنضدة، ووظيفته تجميع أشعة الضوء حيث نستطيع التحكم بتركيز الضوء الموجه إلى الشريحة وذلك بتحريكه إلى أعلى وإلى أسفل.
6. الحجاب الحدقي :
وهو جزء مثبت على السطح السفلي للمنضدة وبواسطته نستطيع تنظيم كمية الضوء الداخلة إلى العدسة الشبئية من خلال الشريحة.
7. القرص :
وهو جزء دائري متصل بالجزء السفلي من الاسطوانة وتستعمل لتغيير أوضاع العدسات الشبئية المتصلة به.
8. الضابط الكبير :
عبارة عن عجلة كبيرة موجودة على جانبي المجهر، تستعمل لتنظيم المسافة بين المنضدة والعدسة الشبئية للحصول على رؤية واضحة، حيث يتم استعمالها في حال العدسة ذات القوة التكبيرية الصغرى (4 x) أو القوة التكبيرية الوسطي (10 x) ولا تستخدم في حال استخدام العدسة الشبئية الكبرى (40 x) أو العدسة الزيتية (100 x) .
9. الضابط الصغير :
عبارة عن عجلة صغيرة موجودة أيضاً على جانبي المجهر حيث تستخدم للمساعدة على رؤية الهدف بصورة أوضح، ويتم استخدام الضابط الصغير في حال استخدام العدسة الشبئية الكبرى (40 x) أو العدسة الزيتية (100 x) .
10. المرآة أو المضيء :
وظيفة المرآة عكس وتوجيه الأشعة من مصدر خارجي إلى العدسة الشبئية مارة بالشريحة المراد تكبيرها، والمرآة سطحان أحدهما

مستو والأخر مقعر، وذلك للتحكم بكثافة الضوء المنعكس، وقد استعيض عن المرآة في المجهر الجديد بمصدر ضوئي ثابت يدعى المضيء.

11. الضاغط :

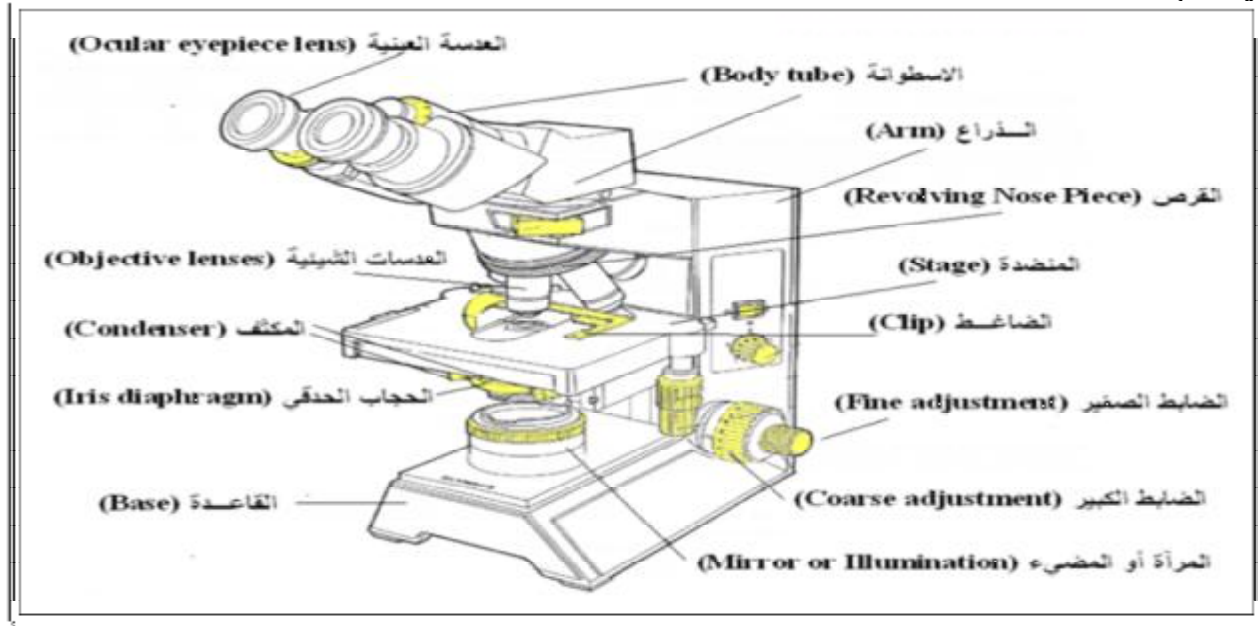
وهناك ضاغطان على المنضدة يستعملان لتثبيت الشرائح عليها.

12. الذراع :

وهي الدعامة التي تستعمل لحمل المجهر والتي تحمل أيضاً الاسطوانة.

13. القاعدة :

وهي الجزء السفلي الذي يرتكز عليه المجهر.



كيفية استعمال المجهر المركب :

بما أن المجهر هو النافذة التي نطل بواسطتها على الكائنات الحية التي لا نستطيع رؤيتها بالعين المجردة، لذا يعتبر المجهر المركب الأداة الرئيسية التي ترمز إلى علم الحياة.

إذن: علينا أن نفهم كيف نستعمل هذا المجهر استعمالاً صحيحاً وكيف نستطيع العناية بهذه الأداة الحساسة.

أ. عند إخراج المجهر من صندوقه الخاص أمسكه من الذراع بيدك اليمنى ومن القاعدة باليد اليسرى وأبقه بوضع عمودي موازياً لجسمك وضعه برفق على الطاولة بحيث يبقى بعيداً عن حافة الطاولة.

ب. عند استعمال المجهر اتبع الخطوات التالية:

1. نظف العدسات العينية والشبيئية بورق عدسات خاص.

2. تأكد من أن العدسة الشبيئية الصغرى في مركزها الصحيح فوق ثقب المنضدة.

3. افتح الحجاب الحدقي إلى النهاية.

4. ضع شريحة على المنضدة وثبت الشريحة بواسطة الضاغط، بحيث تكون العينة المراد فحصها فوق الثقب مباشرة وتحت العدسة الشبيئية الأخرى.

5. انظر خلال العدسة العينية بكلتا عينيك، وحرك الضابط الكبير إلى أعلى حتى تتضح صورة الجسم المراد فحصه، وهذا قد يتطلب تحريك الشريحة قليلاً ليصبح الجسم فوق الثقب مباشرة.

6. افتح وأغلق الحجاب الحدقي، وارفع وأنزل المكثف حتى تحصل على كمية من الضوء تظهر معها الشريحة بوضوح.

7. إذا أردت الحصول على تكبير أفضل، بدل العدسة الشبيئية الصغرى بالعدسة الشبيئية الوسطى بواسطة القرص، وذلك بوضع العدسة الشبيئية الوسطى في مكانها فوق الثقب مباشرة وهنا تشعر بضربة خفيفة، ثم حرك الضابط الكبير لتظهر الصورة بوضوح.

8. لرؤية أكبر وأوضح بإمكانك استخدام العدسة الشبيئية الكبرى، ثم حرك الضابط الصغير لتظهر الصورة بوضوح.

9. بعد الانتهاء من فحص الجسم، أدر القرص حتى تصبح العدسة الشبيئية الصغرى فوق ثقب المنضدة، وأزل الشريحة، وأعد المجهر إلى خزانته بعد وضع غطائه عليه بنفس الطريقة التي وردت في (أ) من هذه الخطوات.

حساب قوة التكبير :

ولحساب التكبير الكلي للجسم المراد فحصه تحت المجهر اتبع الطريقة التالية:

- 1- لاحظ قوة تكبير العدسة العينية بقراءة الرقم المكتوب عليها وهو عادة (10) مرات (10 x).
- 2- لاحظ قوة تكبير العدسة الشيئية بقراءة الرقم المكتوب عليها وهو يختلف باختلاف العدسات الشيئية، ولنفرض أنك استعملت العدسة الشيئية الكبرى التي قوة تكبيرها عادة (40) مرة (40 x) فان :
قوة التكبير الكلية للجسم = العدسة العينية × العدسة الشيئية

$$(400 x) = (40 x) \times (10 x)$$

1- المجهر الفلوريسيني :

عُرف منذ زمن بعيد أن لبعض المواد خاصية امتصاص الموجات الضوئية القصيرة، مثل ألوان الطيف الأزرق والبنفسجي أو فوق البنفسجي مما يتسبب في تهيج هذه المواد فتُطلق طاقة ضوئية ذات موجة طويلة تُكوّن الصورة المكبرة والمعبرة عن هذه المادة.

إذا كان إطلاق مثل هذه الموجات الضوئية بعد توقف عملية التهيج ولو فترة زمنية قصيرة فإن هذه الظاهرة تُعرف باسم الإضاءة الفلوريسينية.

أما إذا استمرت الموجات الطويلة بعد توقف عملية التهيج ولو فترة زمنية قصيرة فإن هذه الظاهرة تُعرف باسم الفسفورية. يُوجد نوعان من المجاهر الفلوريسينية :

1- **مجهر الشعاع الساقط :** تتم الإضاءة فيه بواسطة الضوء النافذ .

2- **مجهر الشعاع النافذ :** وهو عبارة عن مجهر عادي تتم الإضاءة فيه بواسطة الضوء النافذ.

ويتركب هذا المجهر من تنظيم بصري بسيط، كما يُزوّد بمصدر إضاءة مسؤول عن إنتاج ضوء مُهَيَّج من قبل مصباح يُطلق أشعة الطيف المعروفة، وغالباً ما يحتوي هذا المصباح على قوس زئبقي شديد الإضاءة.

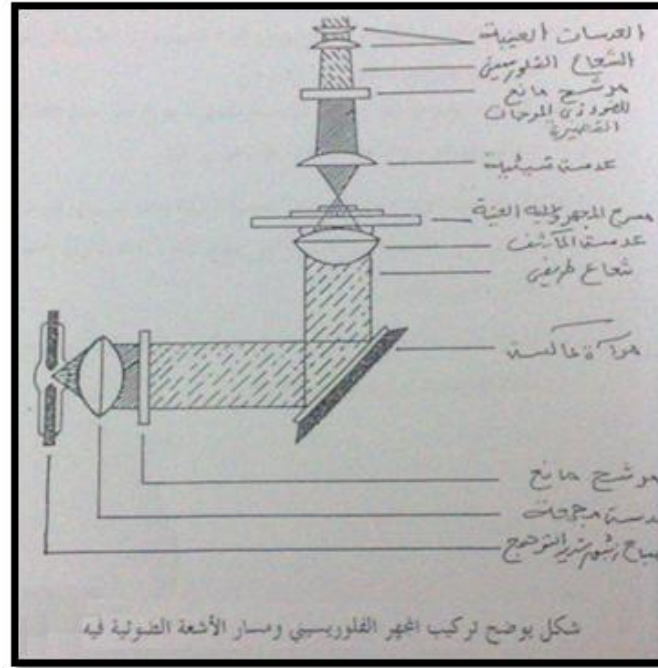
يُحدّد الشعاع ذو الموجة القصيرة المطلوبة بواسطة إمرار الأشعة على مُرشح خاص والذي يسمح لشعاع واحد من أشعة الطيف السبعة بالمرور، هذا الشعاع قصير الموجة يُعكس باتجاه مُكثف المجهر بواسطة المرآة العاكسة والذي بدوره يُركز الشعاع على العينة المصبوغة.

عندما يمر الشعاع قصير الموجة على عينة مصبوغة والتي لها قدرة على امتصاص مثل هذا الشعاع تتهيج وتُصدر نوعاً آخر من الإشعاع طويل الموجة الذي يمر خلال العدسة الشيئية فالعدسة العينية للمجهر مما يؤدي إلى رؤية صورة العينة البراقة. ويتوجب وضع مُرشح مانع بين العدستين الشيئية والعدسة العينية لكي يمنع مرور الشعاع قصير الموجة مع إمكانية السماح بمرور الشعاع طويل الموجة وذلك حرصاً على سلامة عين الفاحص.

كما يُستعمل الحقل المظلم عند الفحص بهذا المجهر وهذا ما يضمن تركيز إشعاع موجات ضوئية قصيرة على العينة ولكي يتكون حقلاً مُعتماً يُحيط بالصورة الفلورسينية ذات بريق واضح أكثر مما لو أُحيط بحقل مجهري مُضيء.

إن الأجسام المضادة التي تتولد ثم تتحد مع أي جسم غريب يدخل إلى الجسم تتحد أيضاً مع الصبغيات التي تتفلور عند تعرضها للأشعة فوق البنفسجية. لذلك إذا عُمر قطاع في محلول يحتوي على الأجسام المضادة الفلورسينية الخاصة بنوع معين من مادة معينة يراد الكشف عنها في القطاع فإن الجسم المضاد الفلورسيني سيتحد مع جُزيئات تلك المادة، وبالتالي يمكن تحديد أماكن هذه المادة في القطاع بعد إضاءتها بالأشعة فوق البنفسجية.

يلعب هذا المجهر دوراً مهماً في دراسة وتصنيف الكروموسومات الخلوية وتفسير ما يحدث من تغيرات غير طبيعية في كروموسومات الخلية ويساهم في دراسة الخلايا السرطانية وفي دراسة الأجسام المضادة.



2- مجهر الطور المتباين أو المعكوس :

يرجع الفضل في اكتشاف هذا النوع من المجاهر إلى العالم زرنيك (Zernike) .

إنَّ الصورة التي يُكوِّنها المجهر للعينة المدروسة تتشكل نتيجة تداخل الضوء المباشر مع الضوء المنحرف بسبب تلك العينة.

ويعتمد على إحداث تغييرات ضوئية بشكل أساسي تؤدي إلى تضخيم الفروق الموجودة بين كثافة المكونات الخلوية المختلفة.

في العينات المصبوغة يكون الاختلاف في الطور بين الشعاع المباشر والشعاع المنحرف وبزاوية مقدارها 180° لهذا ينتج اختزال

للسعة الضوئية والتي بدورها تؤدي إلى حدوث التباين الضروري لرؤية العينة. إن العينة بلا شك تؤثر على مسار الضوء المار عبرها، وهذا التأثير قد يكون في مجال السعة الضوئية أو التغيير في طور موجات الضوء. تُستخدم العينات المصبوغة في المجاهر الضوئية العادية نظراً لأن الأصباغ تقوم بامتصاص بعض الأشعة الضوئية مما ينتج عن ذلك تغيير في السعة الضوئية أو شدة الإضاءة.

ولا تستطيع عين الإنسان أن تُحسَّ بالتغير الذي يحدث لطور موجات الضوء ولهذا فالعينات التي تُحدث مثل هذا التغير عند استخدام المجاهر الضوئية تحتاج إلى استخدام عدسات إضافية لكي تُغير في السعة الضوئية وهذا ما يقوم به مجهر الطور المتباين.

وبالإمكان عكس مظهر الصورة المجهرية بحيث تصبح أكثر بريقاً من الحقل المجهرى لو أوقفنا الضوء المباشر مع المحافظة على الشعاع المنحرف وهذا ما يعرف بالطور المتباين السالب وعموماً فإن الطور المتباين الموجب هو الأكثر شيوعاً، وفيه تبدو الصورة المجهرية أقل بريقاً من الحقل المجهرى.

إنَّ عملية التحكم في طبيعة الإضاءة (الأشعة الضوئية المنحرفة من العينة) تتم بتعديلات بصرية تجري بإدخال ما يعرف بصفيحة الطور والتي توضع خلف المستوى البؤري للعدسة الشيئية.

و صفيحة الطور عبارة عن قرص من الزجاج به تجويف دائري على شكل حلقة تُعرف بحلقة الطور. ويجب معرفة أن كل عدسة شيئية لها صفيحة طور خاصة بها، حيث يختلف التجويف الدائري لصفيحة الطور تبايناً لنوع العدسة.

وفي ختام حديثنا عن هذا النوع من المجاهر الضوئية فإننا نستطيع القول باختصار بأنَّ فكرة هذا المجهر تعتمد على ظاهرة انحراف الضوء نتيجة اختلاف معامل الانكسار بين المكونات المختلفة للخلية أو النسيج المفحوص ويُمكن لهذا المجهر تحويل هذا التباين الطبيعي الذي لا يمكن تمييزه في مجهر عادي إلى تباين أقوى وأوضح بحيث يمكن رؤية مكونات الخلية أو النسيج دون حاجة لقتلها أو صبغها، وهذه أهم ميزات المجهر ذو الطور المعكوس على الإطلاق .

3- المجهر المقلوب:

يُعتبر مجهراً ضوئياً اعتيادياً ولكنه مصمم بشكل خاص ليؤدي غرضاً خاصاً. وهو يناسب دراسة الخلايا والأنسجة المزروعة وهي ما زالت في أطباق ودوارق الزراعة.

وقد قدم هذا المجهر خدمة عظيمة للمهتمين بعلوم الحياة ، إذ مكنهم من مشاهدة ومتابعة ما يحدث من تطورات وتغيرات للخلية وهي تباشر نشاطها الحيوي كالانقسام و التغذية و النمو.

إن المسافة بين العدسة الشيئية والعدسة العينية في هذا المجهر تكون دائماً صغيرة في حدود (2-4) مم فقط، ولهذا يستحيل فحص الخلايا أو الأنسجة وهي مازالت في محاليلها بل يجب تثبيتها وعمل ما يُعرف بالشريحة المجهرية والتي لا يزيد سماكتها عن 2مم. ويعتمد هذا المجهر على جعل الضوء اللازم لإضاءة العينة يسقط عليها من الأعلى، أما العدسة الشيئية اللازمة للتكبير والتمييز فتكون من أسفل مسرح المجهر. وبالإمكان زيادة شدة الإضاءة حسب الحاجة. ولهذا المجهر أهمية خاصة؛ إذ أصبح بإمكاننا معرفة ما يجري داخل الخلية الحية من نشاطات حيوية وبالذات الحركية منها، مما أسهم في تطور علم بيولوجيا الخلية تطوراً ملحوظاً.

4- المجهر متداخل الضوء أو مجهر نورماسكي:

يشبه لحد كبير المجهر متباين الطور لكنه يستطيع أن يوضح الموجات الضوئية التي حصل لها إعاقة نسبية بعد مرورها من خلال العينة الشفافة.

وفي الحقيقة يُستخدم هذا المجهر في قياس مقدار الإعاقة الضوئية، والتي بدورها تُستغل في الدراسات الكمية أكثر من الدراسات المشاهدة.

فعند معرفة سمك العينة المدروسة كالخلية أو عضياتها فإنه بالإمكان حساب معامل انكسار العينة ، وبالتالي يمكن تقدير تركيز الأجسام الصلبة بها ووزنها الجاف.

كما يمكن استخدام هذا النوع من المجاهر لدراسة العينات على مستواها الخلوي أو مستواها النسيجي. يعتمد هذا المجهر بشكل أساسي على استقطاب الضوء أولاً بوساطة مستقطب يوجد أمام مصدر الإضاءة، وهذا الضوء المستقطب يُشطر إلى شعاع رئيسي وشعاع دال عن طريق صفيحة الانكسار المزدوج المحمولة فوق المكثف. إنَّ صفيحة الانكسار المزدوج تُعطي شعاعين منفصلين جانبيين، لكن اتجاهي جذبتهما يكونان متعامدان على بعضهما البعض ويعملان زاوية مقدارها 45° مع مستوي تذبذب الضوء المستقطب الذي يصل إلى المكثف، وعندما يمر هذان الشعاعان عبر العينة نجد أنهما يجتمعان مرة أخرى بوساطة صفيحة انكسار مزدوج ثنائية مثبتة أمام العدسة الشيئية.

5- المجهر الإلكتروني :

المجهر الإلكتروني مجهر يستخدم شعاعاً من الإلكترونات بدلاً من أشعة الضوء لتكبير الأجسام. وقد أصبح المجهر الإلكتروني أداة هامة للأبحاث في علوم الأحياء، والكيمياء، والطب، والتعدين. استخدم العلماء المجهر الإلكتروني لرؤية الأشياء بالغة الصغر كالبكتيريا والفيروسات. وفي عام 1970م أخذت أول صورة لذرات منفردة للثوريوم واليورانيوم بوساطة المجهر الإلكتروني .

وهناك نوعان من المجهر الإلكتروني :

أ- المجهر الإلكتروني النفاذ :

يقوم بإمرار شعاع من الإلكترونات خلال شريحة من عينة يبلغ سمكها بضعة مئات من الأنجستروم. تمتص العينة أو تشتت بعض الإلكترونات. وتركز الإلكترونات الأخرى على شاشة فلورية أو على لوح تصوير بوساطة عدسات مغناطيسية. وهذه العدسات (ملقات مغناطيسات كهربائية خاصة تقوم بثني مسارات الإلكترونات بنفس الطريقة التي تثني بها العدسات الزجاجية أشعة الضوء. ولا تُستخدم العدسات الزجاجية لأن الإلكترونات لا تستطيع المرور خلالها. وتبدو الصورة مظلمة عندما تقوم العينة بامتصاص - أو تشتيت - الإلكترونات، ومضيئة عندما تمر الإلكترونات خلالها.



ب- المجهر الإلكتروني الماسح :

المجهر الإلكتروني الماسح يقوم بتركيز شعاع الإلكترونات بحيث يضرب نقطة صغيرة في العينة، ثم تُمسح العينة بعد ذلك مسحاً عادياً كمشح صورة تلفزيونية.

يضرب الإلكترون سطح العينة، فإنه يسبب خروج إلكترونات أخرى منها تُسمى الإلكترونات الثانوية، كما يسبب سقوط قطرة من الماء على سطح بركة ساكنة حدوث رشاش. ويتحكم عدد الإلكترونات الثانوية في كثافة شعاع الإلكترونات الأخرى داخل أنبوبة الصورة التلفزيونية، ويقوم هذا الشعاع بإنتاج صورة مكبرة للعينة على شاشة تلفزيونية .

يستطيع المجهر الإلكتروني الماسح إبانة أشياء أصغر بكثير من تلك التي يستطيع إبانتها المجهر الضوئي، ولكنها ليست بنفس درجة صغر الأشياء التي يستطيع المجهر الإلكتروني النفاذ إبانتها، ومع ذلك فإن المجهر الماسح يُعتبر أكثر فائدة في رؤية التركيبات السطحية ثلاثية الأبعاد للأشياء الصغيرة .



استعمال المجاهر :

اتباع الخطوات التالية : ضع الشريحة التي تحتوي على العينة المراد دراستها فوق مسرح المجهر بشكل جيد وتأكد من أنها أخذت وضعها الصحيح لتكون العينة إلى الأعلى كما يجب أن تقع مستوى الثقب المركزي للمسرح وإذا لم تكن كذلك يجب تحريكها وضبطها بواسطة محركات المسرح الآلي .

- حرك المرآة حتى تكون شدة الإضاءة متوسطة إذا كان المجهر مزود بمصدر ضوئي كهربائي افتح ضابط الضوء حتى تحصل على

- إضاءة متوسطة كذلك .
- افتح الحاجب الحدقي وحدقة الحقل .
- استعمل أصغر العدسات الشينية الجافة من حيث قوة التكبير ، انظر من خلال العدسة العينية وبحذر شديد ارفع المسرح بالتدريج وباتجاه العدسة الشينية الصغرى وذلك باستخدام الضابط الخشن حتى تظهر ملامح العينة .
- بعد ظهور ملامح العينة يدار الدقيق باتجاه عقارب الساعة أو عكس اتجاه عقارب الساعة وبحذر شديد حتى تتضح ملامح العينة بشكل أدق .
- أغلق حدقة الحقل المجهر وإذا لم تتوسط البقعة الضوئية مجال الحقل يجب ضبط المكثف بواسطة ضابط المكثف .
- افتح حدقة الحقل مرة ثانية بعد ضبط البقعة الضوئية الوهاجة في وسط المجال الحلقي للمجهر ويمكن التحكم في شدة الضوء عن طريق ضابط الضوء أو بإغلاق الحاجب الحدقي للمكثف حتى لا تتعب عين الفاحص .
- عند استخدام عدسة شينية جافة ذات تكبير أعلى استخدم الضابط الدقيق للمجهر حتى تتضح ملامح العينة ويمنع استخدام الضابط الخشن لأن المسافة صغيرة جدا بين العدسة والعينة .
- عند استخدام العدسة الشينية الزيتية يلزم الحذر التام لأن المسافة صغيرة جدا بين العدسة والعينة .
- عند استخدام العدسة الشينية الزيتية يلزم الحذر التام لأن مسافة عمل هذه العدسة قصيرة جدا في حدود 2 مم .
- عند استخدامك للعدسة الزيتية اتبع الخطوات التالية:
- اخفض المسرح إلى الأسفل باستخدام الضابط الخشن .
- ضع قطرة صغيرة من الزيت في وسط الشريحة .
- رفع المسرح مع مراقبة العدسة الزيتية .
- عند ملامسة العدسة الزيتية لقطرة الزيت انظر من خلال العدسة العينية .

- أدر الضابط الدقيق في اتجاه عقارب الساعة أو عكس اتجاه عقارب الساعة قليلاً حتى تتضح ملامح العينة .
- بعد الانتهاء من الفحص بالعدسة الزيتية يجب تنظيفها تماماً ومباشرة من الزيت وذلك باستخدام ورق العدسات .

صيانة المجاهر :

- اتباع الخطوات التالية لكي يبقى المجهر صالحاً للاستعمال ولفترات طويلة :
- يجب عدم لمس العدسات إطلاقاً بالأصابع وعندما تريد تنظيفها استخدم أوراق العدسات .
- يجب التأكد من تنظيف العدسة الزيتية من آثار الزيت بعد الانتهاء من الفحص مباشرة وذلك بمسحها جيداً بورق العدسات وإذا جف الزيت على العدسة تصبح إزالته صعبة ويجب مسحها في هذه الحالة بورقة عدسات مبللة بقليل من الزيلول .
- يجب أن يكون مسرح المجهر دائماً بحالة نظيفة .
- في حالة عدم استخدام المجهر يجب تغطيته ووضعها في الصندوق الخاص به حفاظاً عليه من الأتربة أو الصدمات الغير مقصودة .

يجب مراعاة ما يلي عند استخدام المجهر :

- لا يسمح إطلاقاً للعدسات الشينية أن تلامس الشريحة .
- لا يسمح بحمل المجهر إلا عن طريق الذراع باليد اليمنى ووضع اليد اليسرى تحت القاعدة .
- لا يسمح بترك العدسات الشينية عالية التكبير عمودية على ثقب المسرح بعد الانتهاء من الفحص بل يفضل ترك العدسة الشينية الصغرى نظراً لقصرها .
- لا يسمح باستعمال الضابط الخشن إطلاقاً مع العدسات الشينية عالية التكبير وبالذات الزيتية إلا إذا كان الشخص يعي ماذا ويدرك الخطر المتوقع .
- لا يسمح العمل بخشونة مع المجهر فجميع ضوابطه وحركاته يجب أن تعمل بكل يسر .
- لا يسمح بفك العدسات الأمامية للعدسات الشينية بأي حال من الأحوال .

العناية بالمجهر وطريقة تنظيفه:

المجهر جهاز ثمين يجب العناية به، لذا اتبع الخطوات التالية:

1. أطفئ المجهر.
2. استخدم الضابط الكبير لإنزال المنضدة إلى الأسفل للحصول على مسافة أكبر للعمل، ثم قم بإزالة الشريحة عن المنضدة.
3. تأكد من أن الشرائح المستعملة نظيفة ليس عليها غبار، وتجنب مسك الشريحة من الوسط، وامسكها دائماً من الأطراف.
4. يجب تنظيف العدسات العينية والشبئية قبل استعمال المجهر وبعده، ومن أن لآخر، ترفع العدسة العينية من مكانها وتفك أجزاؤها وتنظف من الداخل والخارج أما العدسات الشبئية فتتنظف من الخارج إذا أنها محكمة الإغلاق لا يتسرب الغبار إلى داخلها، كما لا يجب عدم العبث بها لأن أي خدش لها سينلغها.
5. يجب أن يستعمل في تنظيف العدسات دائماً ورق تنظيف العدسات الخاص وتجنب استعمال القماش أو القطن أو ورق التنشيف، إذ أنه قد يخدش العدسات كما أنه قد يترك عليها وبراً مما يسبب عدم وضوح رؤيتها بالمجهر.
6. بعد الانتهاء من تنظيف المجهر أعد العدسة الشبئية الصغرى إلى مكانها.
7. أعد المجهر إلى خزانته بعد وضع غطائه عليه.

تنظيف الشريحة الزجاجية قبل استعمالها:

يجب أن تكون الشريحة وغطاؤها نظيفتين وصافيتين، وإذا كانتا متسختين فيجب تنظيف كل منهما قبل وضع العينة على الشريحة.

1. لمسك الشريحة بيدك اليسرى بين إصبعيك من حافتيها النهائيين.
2. بسبابة اليد اليمنى، افرك سطحي الشريحة بمسحوق التنظيف المزود لك.
3. اغسلها جيداً بالماء العادي بواسطة سبابة اليد اليمنى إلى أن تختفي آثار مسحوق التنظيف عنها ثم اغسلها بقليل من الماء المقطر لتزيل آثار الماء العادي (دون استعمال السبابة).
4. ضع الشريحة أو الشرائح بين ورقتي نشاف.
5. حاول أن تمسك الشرائح المجففة النظيفة من حافتيها النهائية لئلا تترك آثار أصابعك على الشريحة.

:. المبحث الثاني |.:

" خطوات تحضير العينة "

يقصد بالتحضيرات المجهرية بأنها تلك الخطوات أو العمليات التي تستعمل فيها معدات أو أجهزة علمية وطرق تحضير دقيقة تسهل على الدارس معرفة ماهية التراكيب الخلوية لجسم الكائن الحي، وطريقة الحصول على العينة .

" طرق التحضيرات المجهرية "

أهم الطرق المتبعة في الحصول على العينة من الكائن الحيواني ما يلي:

أولاً : الذبح : وهي من أسهل العمليات وأسرعها وتطبيق على معظم الحيوانات الفقارية إذا استثنينا الأسماك منها وتستخدم سكين حادة جدا وتتم عملية الذبح بقطع أوردة وشرابين الرقبة مع القصبة الهوائية والبلعوم .

ثانياً : التنخيع : ويقصد بها شل الحيوان شلا كاملا وذلك بفصل الحبل الشوكي عن الجهاز العصبي المركزي أو المخ وبذلك لا يحس الحيوان بالألم أثناء عملية التشريح وتتم عملية التنخيع بغرز إبرة التشريح الحادة فيما بين الفقرة الأولى من الفقرات العنقية والجمجمة حتى تصل إلى الحبل الشوكي ثم تحرك هذه الإبرة يمنا ويسرة حتى نضمن الانفصال التام للحبل الشوكي عن الجهاز العصبي المركزي وكثيرا ما يطبق على الضفادع .



ثالثاً : ضرب مؤخرة الرأس : وتهدف إلى ارتجاج مخي مفاجئ بحيث يصبح الحيوان بعدها في حالة غيبوبة تامة تتم هذه العملية بالإمساك الجيد بالحيوان بحيث تكون الناحية البطنية باتجاهك مع ترك منطقة العنق والرأس حرة الحركة ثم يضرب بمؤخرة الرأس الخلفية ويشكل سريع ومفاجئ على أي جسم صلب الطاولة ويجب أن يتم الارتجاج المخي بضربة واحدة فقط بدون تردد أو خوف وإلا تألم الحيوان ويعرف نجاح العملية في حالة الفار بخروج الدم من فتحتي الأنف (هذه الطريقة تناسب الفئران والضفادع) .

رابعاً : التخدير : نستخدم هذه الطريقة بنجاح كبير مع الحيوانات المعملية ولكن يجب مراعاة ما يلي :

- إذا كان من المرغوب إعداد تحضيرات دقيقة في علم الخلية لا تُستخدم طريقة التخدير، حيث أنها تؤدي إلى إحداث تغيرات في التراكيب الخلوية .
- تُستخدم هذه الطريقة في الدراسات النسيجية الروتينية ولا ضرر منها على الأنسجة بصفة عام .
- تُستخدم هذه الطريقة أيضاً في دراسة كيفية قيام الأعضاء بوظائفها خاصة إذا كان المخدر طويل المفعول إلى حد ما .



:. المبحث الثالث |.:

" التثبيت والمثبتات "

- الغرض من التثبيت هو حفظ التفاصيل التركيبية الخلوية للعينة في حالة مشابهة لما كانت عليه قبل فصل العينة من الكائن الحي .
- تحويل المواد البروتينية الذائبة إلى مواد متخثرة مما يحد من عملية التحلل الذاتي و البكتيري مع المحافظة على طبيعة العضيات الخلوية .
- وإكساب العينة قدرا من الصلابة تمكنها من تحمل عمليات التجفيف والطمر التي تعقب عملية التثبيت .

" التثبيت "

خطوات التثبيت :

- الحصول على العينة : عدم إزعاج الكائن الحي حتى لا يختل النظام الإفرازي ، يفضل عدم استخدام المواد المخدرة لقتل الحيوان لما تسببه من تغيرات داخلية ، مع سرعة وضع العينة بالمثبت لكي لا تتحلل بعض المكونات الخلوية " والحشرات والطفيليات تشرح في محلول المثبت مباشرة " .

نفاذية المثبت:

- يجب أن يتميز المثبت بسرعة نفاذة لمكونات العينة .
- أن تقطع العينة إلى مكعبات صغيرة (2مم) لتسهل سرعة نفاذ المثبت .

الضغط الأسموزي والرقم الهيدروجيني للمثبت:

- يجب أن يكون الضغط الأسموزي للمثبت مشابها للضغط الأسموزي للعينية .
- أن يحتوى على محلول متعادل .
- كذلك الاختلال في الأس الهيدروجيني ربما يحرر أيونات الهيدروجين لذا يفضل إضافة احد المحاليل المنظمة .

درجة حرارة التثبيت ومدة التثبيت :

- كلما زادت درجة الحرارة كان سرعة التثبيت أكبر والتثبيت لمدة طويلة عند درجة حرارة عالية يسبب فصل بعض مكونات الخلية .
- مدة التثبيت تعتمد على نوع المثبت وحجم ونوع العينة (1-4 ساعات) .

تركيز المثبت:

- تعتمد على نوع المثبت كلما كان تركيز المثبت قليل احتاج لمدة أطول للتثبيت وإذا كان التركيز عالي جدا قد يكسر عضيات الخلية.

" المثبتات التي تحتوى على الألدهيدات "

- محلول الفورمالدهيد هو أحد المثبتات شائعة الاستخدام في مجال المجهر الضوئي و لكنة غير مرغوب به بالنسبة للمجهر الإلكتروني.
- لكن محلول الجلوتر ألدheid يحبذ كمثبت ثاني مع رابع أكسيد الأوزميوم .
- الجلوتر ألدheid مركب عضوي يتكون من سلسلة من خمس ذرات كربون تحمل مجموعتي ألدheid وزنة الجزيئي 100,12 ويمتاز بلزوجة منخفضة ، وضغط البخاري 17مم زئبق عند درجة 20م. ويعتبر قليل السمية نسبيا ، ويحضر على هيئة محلول تركيزه 25% قليل الثبات عند درجة حرارة الغرفة لذا يحفظ بالثلاجة ، ويعمل على تثبيت البروتينات في العينات ومدة التثبيت ساعة ، وهو اقل تطايرا .

" التثبيت المضاعف "

- حالياً لا يستخدم رابع أكسيد الأوزميوم كمثبت لوحدة لعينات المجهر الالكتروني بل يستخدم معه مثبت آخر لذلك تعتبر عملية التثبيت مضاعفة حيث يستخدم مثبتين الأول الأوزميوم والثاني الجلوترألدهيد .
فالأول يثبت الدهون المتعادلة والفسفورية بينما الجلوترألدهيد يثبت البروتينات للخلية .
- مثبت البرمنجنات(البوتاسيوم) كانت تستخدم لتثبيت العينات النباتية فهي مادة تؤكسد تشبه رابع أكسيد الأوزميوم لكنها تؤثر على الأنسجة بشكل مختلف وتعمل على تحطيم الحمض النووي الريبوزي والهستونات ،كما أنها تذيب بعض البروتينات ،وتتأثر العينات المثبتة بالبرمنجنات بالكحوليات عند نزع الماء فيما بعد.

[: المبحث الرابع]:

" غسيل العينة "

n يتم غسل العينة - بين محاليل التثبيت وبعدها - بعدة محاليل منها:

1. المحلول المنظم .
2. الماء المقطر أو الماء المقطر المنزوع منه الأيونات.
3. يتم تغيير محلول الغسيل عدة مرات لإزالة بقايا محلول التثبيت .

" طريقة غسيل العينة "

غسل العينة بعد إتمام عملية التثبيت ويجب التخلص من آثار المثبت المتبقية في العينة كما يلي:

- تغسل العينات المثبتة في مثبت بوان بالكحول 70 % حتى يزول اللون الأصفر
- تغسل العينات المثبتة في زنكر بالكحول 96 % مشبع باليود ومدة الغسيل تتراوح من 5 - 8 ساعات .
- العينات المثبتة في مثبت روسمان تغسل بالكحول 96 %
- العينات المثبتة في الفورمالين تغسل بماء الصنبور الجاري لمدة 24 ساعة .
- تحفظ العينة في 70 % كحول إيثيلي .
- **نزع الماء من العينة :** الماء لا يمتزج مع شمع البرافين لذلك يجب التخلص من الماء الموجود في النسيج الخلوي حتى تسهل عملية نفاذ البرافين المصهور إلى داخل الأنسجة وتتم عملية نزع الماء بتمرير العينة على سلسلة متدرجة الارتفاع في التركيز من محاليل الكحول الإيثيلي وتتراوح المدة اللازمة لترك العينة في كل خطوة من خطوات نزع الماء في محاليل الكحول المختلفة التركيز من 30 دقيقة إلى

ثلاث ساعات كحد أقصى ويفضل أن تمرر العينة في مراحلها الأخيرة من خطوات نزع الماء على محلولين منفصلين من الكحول المطلق ولمدة تتراوح من ساعتين إلى ثلاث ساعات في كل مرة وذلك لزيادة التأكيد من تمام نزع الماء من العينة .
عند تحضير سلسلة كحول متدرجة التركيز يفضل استخدام 95 % كحول ايثيلي بدلا من الكحول المطلق ومنه تعمل التركيز المطلوبة فلكي نحضر محلول بتركيز 70 % نأخذ 70 مل من محلول الكحول 95 % ونضيف إليه 25 مل من الماء المقطر ليكون التركيز النهائي من الكحول 95 %

- **ترويق العينة :** الكحول لا يمتزج مع شمع البرافين لذا يعتبر محلول الزيلول من أنسب المحاليل المروقة لسهولة امتزاجه مع البرافين والكحول وهناك مواد يمكن استخدامها كمروقات مثل التولوين والبنزين والكلوروفورم ولكنها سريعة التطاير .
- **تخليل العينة :** المقصود من تخليل العينة هو تشبع العينة بالبرافين وتتم العملية بتمرير العينة على مزيج متساو من الزيلول والبرافين ثم تنقل العينة في شمع البرافين المنصهر داخل الفرن وتكرر هذه العملية لعدة مرات (من مرتين إلى خمس مرات) كل مرة لمدة نصف ساعة .

- **طمر العينة :** يستخدم في العينات الصلبة شمع البرافين الصلب والذي تتراوح درجة انصهاره بين 56 و 58 درجة مئوية أما العينات اللينة فيستخدم لها شمع البرافين الرخو والذي تتراوح درجة انصهاره فيما بين 50 و 52 درجة مئوية ويستخدم لعملية الطمر صندوق مفتوح الجهتين (علبة كبريت فارغة) ويفضل أن تدهن حواف القالب أو الصندوق الداخلية بمادة الجلسرين حتى لا يلتصق شمع البرافين بحوافة وتتم العملية كما يلي :

- ضع قالب الطمر على لوح زجاجي رقيق .
- اسكب شمع البرافين المنصهر في القالب المفتوح من الجهتين .
- ضع العينة مباشرة بملقط وسط الشمع المنصهر .
- حرك العينة قليلا بإبرة تشريح ساخنة حتى تضمن عدم تكون فقاعات هوائية .
- أغمر القالب بعد تجمد الطبقة الخارجية للشمع في ماء بارد (10 - 15 درجة مئوية) حتى يتصلب البرافين .
- **تقطيع العينة :** ثبت العينة جيدا على حامل العينة في الميكروتوم حدد سمك القطاع المرغوب فيه (5 - 7 ميكرومتر) وتكون القطاعات الجيدة على شكل سلسلة متصلة من القطاعات .

:. المبحث الخامس |:.

" تقطيع العينات "

أجهزة تقطيع السكاكين الزجاجية عالي الدقة أجهزة تقطيع العينات شديدة الدقة

" أجهزة تقطيع السكاكين الزجاجية عالي الدقة "



يستخدم لتقطيع العينات باستخدام السكاكين الزجاجية والماسية

عملية التقطيع (الجهاز مزود بكاميرا وشاشه لعرض علما بأن (TEM) الإلكتروني النافذ وذلك لتجهيزها للفحص بالميكروسكوب (أثناء الدورات

" أجهزة تقطيع العينات شديدة الدقة "



يستخدم لتقطيع العينات باستخدام السكاكين الزجاجية والماسية

وذلك لتجهيزها للفحص بالميكروسكوب الإلكتروني النافذ

علما بأن الجهاز مزود بكاميرا وشاشته لعرض عملية التقطيع أثناء الدورات (TEM)

:. المبحث السادس |:.

" الصبغات "

أهمية الصبغ:

- 1- رؤية البكتيريا و التعرف عليها.
- 2- بعض أنواع الصبغات تستخدم في التفرقة بين أنواع البكتيريا مثل صبغة جرام التي تفرق بين الإيجابية والسلبية وصبغة زيل نلسن تصبغ البكتيريا المقاومة للأحماض.

" أنواع الصبغات "

* صبغات بسيطة:

- صبغة كاربول فوكسين .

* صبغات مركبة: وهي الصبغات التي تستخدم فيها أكثر من صبغة أولية

- صبغة جرام:

وهي تتكون من صبغة الميثيل فيولنت وكذلك صبغة اليود .

- صبغة الزيل نلسن:

تستخدم هذه الصبغة لصبغ البكتيريا المقاومة للأحماض (Acid –Fast) مثل الميكوبكتيريا وذلك لاحتواء هذه البكتيريا على مواد شمعية لذلك يلزم استخدام مثل هذه الصبغة مع التسخين.

وسوف نتحدث عن صبغة جرام وصبغة الزيل نلسن بشي من التفصيل في الصفحة القادمة – إن شاء الله تعالى - .

" صبغة جرام "

- تحضير اللطخة البكتيرية باستخدام محلول ملحي
- غمر الشريحة بمحلول Crystal violet لمدة 30 الى 60 ثانية
- غسل الشريحة بماء الحنفية الهادي
- غمر الشريحة بمحلول اليود لمدة 30 الى 60 ثانية
- غسل الشريحة ثم اغمر في الكحول المطلق لمدة 60 ثانية
- غسل الشريحة جيدا ثم اغمر في صبغة Safranin لمدة 30 إلى 60 ثانية.
- غسل الشريحة ثم جففها ثم فحصها

" صبغة زيل نلسن "

- تحضير لطخة من البلغم الغليظ (لاحتمال وجود عصيات السل بكمية أكبر) على شريحة زجاجية مع التثبيت بواسطة اللهب.
- غمر الشريحة بصبغة الكاربول فوكسين مع التسخين حتى يتصاعد البخار وظهور لون ذهبي ننتظر لمدة 3-4 دقائق.
- غسل الشريحة بماء الحنفية الهادي.
- غمر الشريحة في أسيد الكحول لمدة 5 دقائق حتى تصبح اللطخة لونها زهري فاتح (لإزالة الصبغة من البكتريا).
- غسل الشريحة بماء الحنفية الهادي.
- غمر الشريحة بصبغة المثيلين بلو من 2-3 دقائق.
- اغسل الشريحة بماء الحنفية الهادي
- أجففها بواسطة ورق ترشيح ومن ثم الفحص

ملاحظة :

- يستحسن استخدام ماء مقطر في عملية الغسيل حيث توجد أنواع من البكتيريا المقاومة للأحماض في مياه الصنبور
- البعض يستخدم أنية خاصة لصبغ عدد من الأفلام مرة واحدة وهذا خطأ فربما انتقلت البكتيريا المقاومة للأحماض من عينه ايجابية إلى أخرى سلبية فيجب الصبغ كل شريحة على حده
- يجب عمل شريحتين لكل عينة وفحص كل شريحة لمدة 20 – 30 دقيقة لأنه إذا وجد في الفلم كله عدد 1 عضية سل يدل على أن الميكروب يوجد بنسبة 10،000 مكبرة لكل 1 سنتيمتر مكعب في عينة البلغم
- فحص البيئات والتعرف على المستعمرات .

المراجع :

- عدة مواقع على الإنترنت .
- مذكرة تحضيرات عامة – جزء حيوان للدكتور عمرو عبد الحليم راشد .
- كتاب الأحياء للصف الأول ثانوي .