**المختبر الاول علم النبات العام/الجزء العملي Lab1**

**المجهر الضوئي ومكوناته The microscope**

يعرف المجهر على انه جهاز بصري مكون من اجزاء دقيقة حساسة في عملها, يختص بتكبير الاشياء والاجسام الصغيرة التي لايمكن رؤيتها بالعين المجردة, وبالتالي تسهيل دراسة هذه الاجسام والدقة في الحصول على النتائج المطلوبة.

**مبدأ عمل المجهر**

مبدأ عمله يعتمد على جلب العينة التي يرغب الباحث بدراستها ووضعها على شريحة زجاجية خاصة بالمجهر تدعى ب سلايد Slide, مع مراعاة ان تكون هذه العينة رقيقة وصغيرة جدا لضمان تحولها الى عينة شفافة, ويتم وضع هذه الشريحة التي تحتوي على العينة على الفتحة الموجودة بالقاعدة وتوجيه الضوء الى الجهة العليا, ثم تمرير الضوء من خلال العينة ومن خلال العدسة الشيئية التي تم وضعها فوق العينة بشكل مباشر تقوم العدسة الشيئية بالعمل على تكبير العينة المطلوبة, وبعد ذلك يتم العمل على انزال الصورة التي تم تكبيرها من خلال القصبة وباتجاه العينة التي تم تثبيتها في قطعة العين, لكي تكبر الصورة بصورة اكبر, ويتميز المجهر الضوئي في انه يحتوي على العديد من العدسات الشيئية, التي تختلف فيما بينها في درجات التكبير اللازمة المجهر الالكتروني.

**انواع المجهر**

هنالك العديد من انواع المجاهر ومنها:-

1**- مجهر الحقل المضيء Bright field Microscope**

**2- مجهر الحقل المظلم Dark Field Microscope**

**3- المجهر التألقي Fluorescence Microscope**

**4- مجهر الاشعة فوق البنفسجية Ultraviolet Microscope**

**5- المجهر الالكتروني Microscope Electrone**

في المجاهر الضوئية السابقة نحتاج الى ضوء لرؤية العينة وباطوال موجية مختلفة, اما في المجهر الالكتروني فتستخدم الالكترونات. اهم انواعه:-

1- المجهر الالكتروني النافذ Transmission Electron Micros (TEM) :- يدرس التركيب الدقيق لمكونات الخلية.

2- المجهر الالكتروني الماسح Scanning Electron Micros (SEM) :- يستخدم لدراسة السطح الخارجي.

3- المجهر الالكتروني الماسح النافذ Scanning Transmission Electron Micros (STEM):- هو تركيب يضم الجهازين معا.

**اجزاء المجهر الضوئي المركب**

**1- العدسة العينية:-** هي مثبتة في الطرف العلوي للاسطوانة المعدنية الموجودة في اعلى جزء من المجهر , ومن خلال هذه العدسة تنظر العين الى الداخل لرؤية العينة المراد فحصها.

**2-** **العدسة الشيئية:-** وهي تستخدم لتكبير العينة, وتقع بالقرب من العينة المراد فحصها, ويحتوي المجهر المركب على اكثر من عدسة شيئية (ثلاث او اربع عدسات) وتثبت هذه العدسات في قرص دائري يستخدم للتبديل بينها, وتختلف كل عدسة في قوة تكبيرها عن العدسة الاخرى, ويكتب على جانب كل عدسة شيئية عادة قوة تكبيرها, ومن هذه العدسات: العدسة الشيئية الكبرى وقوة تكبيرها عادة (40X), والعدسة الشيئية الوسطى وقوة تكبيرها عادة (10X) , والعدسة الشيئية الصغرى وقوة تكبيرها عادة (4X), والعدسة الزيتية وتصل قوة تكبيرها عادة الى (100X).

**3- المنضدة او المسرح:-** وهي عبارة عن سطح مستو عليه شريحة زجاجية, تستخدم لوضع العينة المراد فحصها عليها, ويتم تثبيت العينة عليها باستخدام ماسكان معدنيان, وتحتوي على فتحة في منتصفها لمرور الضوء خلال العينة.

**4- الضابطان الكبير والصغير:-** وهما عبارة عن عجلتين كبيرة وصغيرة, توجدان في جانب المجهر , وتستخدمان للضبط عن طريق تغيير المسافة بين المنضدة والعدسة الشيئية المستخدمة.

**5- مصدر الاضاءة:-** يوجد هذا المصدر عند قاعدة المجهر, ويكون اما مصباحا كهربائيا, او مراءة تستخدم لتوجيه الضوء على العينة.

**6- المكثف او القرص:-** هو جزء موجود اسفل المنضدة يعمل على تجميع الضوء الموجه الى الشريحة ومن خلاله يمكن التحكم بكمية الضوء الواصلة للشريحة.

**7- القاعدة:-** هي الجزء الذي يستند عليه المجهر.

**8- الذراع:-** هي الدعامة المستخدمة لحمل المجهر.

**9- الجسم الانبوبي:-** هو الجزء العلوي الذي يحمل العدسة العينية ويتصل من الاسفل بالقرص الدوار.

**10**- **القرص الدوار**:- هو الجزء الذي يمكن بواسطته تغيير قوة التكبير.

**مقارنة بين المجهر الالكتروني والضوئي**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | **المجهر الالكتروني** | **المجهر الضوئي** |
| 1 | تستخدم عدسات مغناطيسية | تستخدم عدسات زجاجية |
| 2 | يحتوي انبوبة مفرغة من الهواء حيث ان الهواء يمنع حركة الالكترونات | يوجد في الانبوبة هواء |
| 3 | طول الموجة قصير جدا | طول الموجة 400ملي مايكرون |
| 4 | يستخدم سيل من الالكترونات | يستخدم الضوء الاعتيادي |
| 5 | العينة المراد فحصها جافة (ميتة) | العينة المراد فحصها جافة او غير جافة |

**تحذيرات عامة يجب مراعاتها عند استخدام المجهر**

1- يجب ترك مسافة 10 سم بين المجهر وحافة منضدة لتجنب سقوط المجهر.

2- عدم امالة المجهر عند استخدامة.

3- فحص المجهر والتاكد من سلامته وسلامة اجزاءه.

4- تنظيف العدسات الشيئية والعينية قبل استخدامها ومن حين لاخرمع مراعاة استخدام اوراق تنظيف خاصة للعدسات تجنبا لخدشها.

5- التاكد من نظافة الشرائح المستخدمة وليس عليها غبار وتجنب مسك الشريحة باليد ومسكها من الاطراف.

6- عند فحص الشرائح يجب مراعاة الفحص بالعدسة الشيئية الصغرى ثم بعد ذلك تفحص بالعدسة الشيئية الكبرى.

7- بعد الانتهاء من استخدام المجهر ارجع العدسة الشيئية الصغرى ثم نظف المجهر.

**طريقة حساب قوة التكبير للعينة المراد فحصها**

قوة التكبير = تكبير قوة العدسة العينية × تكبير قوة العدسة الشيئية

تتكون اغلب المجاهر المستعملة في عدسات المايكروبايولوجي من ثلاثة عدسات شيئية: العدسة الصغرى (10X) والعدسة الكبرى (40X) والعدسة الزيتية (100X) ويحسب التكبير النهائي للمجهر بضرب 10 او 40 او 100 X 10 اذ ان تكبير العدسة العينية يبلغ (10X).

**طريقة تنظيف الشريحة الزجاجية قبل استخدامها**

1- تمسك الشريحة باليد اليسرى بين الاصبعين من حافتهما.

2- بسبابة اليد اليمنى تفرك الشريحة بمسحوق التنظيف. ثم تغسل بالماء العادي الى ان تختفي اثار المسحوق ثم تغسل بالماء المقطر لازالة الماء العادي.

3- توضع الشريحة الزجاجية بين ورقتي النشاف.

**طريقة تحضير الشرائح الزجاجية**

اولا:- تحضير الشرائح المؤقتة

1- تؤخذ شريحة زجاجية نظيفة وجافة مع غطاء للشريحة بتغطيسها بماء مقطر او ماء مقطر مضاف اليه قطرات من حامض الكبريتيك ذو تركيز 5% ثم تمسح الشريحة بقطعة قماش نظيفة وجافة.

2- توضع قطرة من الماء وسط الشريحة الزجاجية ثم يوضع الجزء المراء فحصه بالمجهر في تلك القطرة, ثم يوضع غطاء الشريحة وبوضع مائل بالقرب من القطرة ويجب التخلص من الماء الزائد الذي يسيل منه خارج غطاء الشريحة وذلك بالاستعانة بالورق النشاف.

ثانيا:- تحضير الشريحة الدائمية

1- **التثبيت Fixation**:- يتم فيها معاملة النسيج النباتي بمثبتات كيمياوية لكي تحافظ على محتويات الخلية وتجعلها كما لو كانت بصورتها الحية, وتحول دون تأثير الانزيمات الموجودة بداخلها ومن امثلة تلك المثبتات هي الكحولات والاحماض العضوية او خليط منها بنسب معينة.

2- **الصباغة Staining:-** هي صباغة مكونات الخلية لتصبح واضحة ومميزة كل مكون من مكونات الخلية بصبغة خاصة تبعا لتركيبه الكيمياوي. ان صبغة الاخضر السريع (Fast green) اذا كان تركيبه من السليلوز وكذلك هذه الصبغة ممتازة جدا في تصبيغ السايتوبلازم وخيوط المغزل في الانقسام الخلوي وتحضر بأذابة 1 غرام او نصف غرام في 100سم3 من الكحول الاثيلي او بصبغة السفرانين Safranin وتترك لمدة 24-48 ساعة قبل الاستعمال اذا كان تركيبه من اللجنين, اما النواه فتصطبغ بصبغات معينة مثل الاورسين Orcein او الكارمين. اما صبغات سودان 3و4 تستخدم في تصبيغ المواد الشمعية والراتنجية والبلاستيدات.

3- **التحميل Mounting :-** وضع الجسم المراد فحصه بعد صباغته على شريحة زجاجية ثم تغطيتها بغطاء زجاجي بعد اضافة مواد مثل كندا بلسم لتصبح الشريحة دائمية ويمكن فحصها في اوقات لاحقة.

**المشراح Microtome**

جهاز قطع خاص لقطع شرائح الاجسام المراد فحصها تحت المجهر, اذ يتم عمل قطع رقيقة ومنتظمة تصل الى عدة مايكرونات وذلك حسب نوع المشراح, ومن اهم انواعه المشراح الافقي, الدقيق, الرقمي وغيرها.

يمكن قطع الشرائح باليد بواسطة سكاكين خاصة.



شكل يوضح المجهر واجزائه