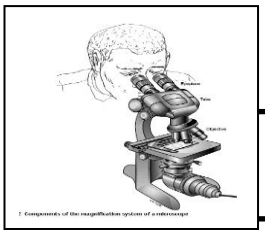
المحاضرة الثانية ..... (Pages: 6-13)

المصادر المعتمدة:

(1) أساسيات علم الحيوان. د. محمد إسماعيل محمد، د. حلمي ميخائيل بشاى، د. يحيى السعيد العاصي د. منى شرقاوي علي، د. تغريد عبد الرحمن حسن.
(2) علم الحيوان العام. فؤاد خليل، محمود حافظ.



المجهر The Microscope

يعتبرالمجهر من الأجهزة الأساسية في علم الأحياء وهو عبارة عن جهاز يستخدم لتكبير النماذج والكائنات الصغيرة ويعتمد على مرور الضوء عبر النموذج المراد تكبيرة عبر مكثف خاص يسلط الضوء على أجزاء النموذج ثم يمر الضوء عبر عدسات مكبرة معدة لهذا الغرض.

تعتبر المجاهر الوسيلة الأولى التي أمكن استخدامها في دراسة الخلية. وقد كان للمجاهر الضوئية دورا كبيرا في معرفة مكونات الخلية من العضيات. ولعلها احد أهم الأسباب التي ساعدت ومازالت تساعد الباحثين في الكشف عن أسرار الخلية. وهناك نوعين من المجاهر المستخدمة في دراسة الخلية، وهي :

1. **المجاهر الضوئية Light microscopes**
2. **المجاهر الالكترونية Electron microscopes**

المجاهر الضوئية Light microscopes

ويوجد نوعان من هذه المجاهر هما:

A - المجهر الضوئي البسيط (Simple light microscope)

وهو أول وابسط المجاهر التي أستخدمت في دراسة الخلية. ويتكون المجهر البسيط من عدسة زجاجية واحدة محدبة الوجهين. ومصدر الإضاءة فيه ضوء الشمس أو الضوء الكهربائي، وقوة التكبير فيه لا تزيد عن 25 مرة. ولم يعد استخدام مثل هذا النوع من المجاهر شائعاً في الوقت الحالي.

B- المجهر الضوئي المركب (The compound light microscope)

يمتاز هذا النوع من المجاهر الضوئية بقوة تكبير عالية قد تصل إلى ألف مرة. و يعتبر المجهر الضوئي المركب أكثر تعقيداً من المجهر الضوئي البسيط حيث يعتمد نظام التكبير فيه على مرور الضوء خلال العينة (Specimen) المراد فحصها إلى نوعين من العدسات، الأول يعرف بالعدسات الشيئية (Objective lenses) وهي القريبة من العينة. أما النوع الثاني فيعرف بالعدسات العينية (Ocular lenses) وهي العدسات التي يمكن رؤية صورة العينة من خلالها .

أنواع المجهر الضوئي المركب

1- مجهر المجال المضيء Bright field microscope

وفى هذا النوع من المجاهر الحقل الميكروسكوبي مضيئًا إضاءة كاملة، وبقية الأجسام المفحوصة تبدو داكنة أو مصبوغة. ويصل أقصى تكبير إلى 1000مرة، فمجهر الحقل المضيء هو عبارة عن مجهر مركب Compound ويتكون من نوعين من العدسات: العدسة العينية Ocular Lens، والعدسة الشيئية Objective Lens ويستخدم أشعة الضوء المرئي كمصدر لإضاءة الجسم المفحوص، ويمكننا بواسطة هذا النوع من المجاهر دراسة كائنات متناهية الصغر إضافة إلى دراسة بعض تفاصيلها الدقيقة أحيانًا. ونحصل على هذه التكبيرات عندما تمر أشعة الضوء (من مصدر الإضاءة) خلال المكثف Condenser الذي يوجهها بدوره لكي تسقط على الجسم المفحوص. وتمر الأشعة من خلال الجسم المفحوص لكي تدخل إلى العدسة الشيئية والتي تكبر العينة ثم تعمل العدسة العينية مرة أخرى على مضاعفة هذا التكبير لكي نصل إلى التكبير النهائي. ويحسب التكبير النهائي للمجهر بضرب: **تكبير (قوة) العدسة العينية × تكبير (قوة) العدسة الشيئية.**

تتكون أغلب المجاهر المستعملة فى مختبرات الميكروبيولوجي من ثلاثة عدسات شيئيه هي 10، 40، 100. أما العدسة العينية فتبلغ قوتها 10 مرات. لذلك فللحصول على التكبير النهائي نضرب 10 أو 40 أو 100 × 10 فيكون تكبير العدسة الصغرى 100 والكبرى 400 والزيتية 1000.

3. مجهر المجال المظلم Dark field microscope

يستخدم هذا النوع لدراسة العينات الحية غير المصبوغة، إما لأن الصبغ يؤثر في مكونات العينة ويفقدها وضوحها، أو بغرض دراسة الكائنات في صورتها الحية. ويتركب هذا المجهر من نفس الأجزاء الموجودة في مجهر المجال المضيء باستثناء نوع المكثف ومن الحالات التي يستخدم فيها هذا المجهر فحص بكتريا *Spirochetes* الدقيقة جدًا، والنوع *Treponema pallidum* المسببة لمرض الـ Syphilis.

4. المجهر الفلوريسينى Fluorescence microscope

له القدرة على امتصاص أشعة الضوء ذات الموجات القصيرة غير المرئية، ثم تطلق أشعة ضوئية ذات موجات أطول ولونًا مميزًا، وتسمى هذه الظاهرة الظاهرة الفلورسينية Fluorescence.

5. **مجهر الأشعة فوق البنفسجية Ultraviolet microscope**

وهو مجهر تتكون أجزاؤه الرئيسية من نفس أجزاء المجهر الضوئي العادي باستثناء بعض الاختلافات مثل:

1- يستعمل فيه أشعة الضوء فوق البنفسجية القصيرة غير المرئية لإضاءة الجسم المفحوص بدلا من أشعة الضوء العادي.

2- يستعمل عدسات من الكوارتز بدلا من عدسات الزجاج العادي، لأن الكوارتز لا يمتص الأشعة فوق البنفسجية عكس العدسات الزجاجية.

3- نظرا لأن هذه الأشعة غير مرئية فإن المجهر يزود بكاميرا للتصوير الفوتوغرافي تصور العينة، ومن ثم تتم دراستها.

ويستعمل هذا المجهر للحصول على تكبيرات عالية مقارنة بالمجهر العادي، نظرا لقصر طول موجات الضوء المستعمل.

6. **مجهر تباين الأطوار Phase contrast microscope**

وهو مجهر ضوئي عادى مزود بمكثف خاص يعمل على التمييز بين مكونات الخلية الميكروبية المفحوصة غير المصبوغة) والتي لا يستطيع المجهر الضوئي تمييزها.

المجاهر الالكترونية Electron Microscopes

تمتاز هذه المجاهر بقوة تكبير عالية جداً قد تصل إلى أكثر من مليون مرة، كما أن مصدر الإضاءة فيها عبارة عن حزم من الالكترونات، والعدسات المستخدمة فيها هي عدسات كهرومغناطيسية، بالإضافة إلى أسعارها المرتفعة. ومنها الأنواع التالية:

1- ***المجهر الالكتروني النافذ (Transmission Electron Microscope)***

وهو من أول المجاهر الالكترونية التي تم استخدامها في دراسة الخلية. حيث بدأ العلماء باستخدام هذا النوع من المجاهر الالكترونية في الخمسينات من القرن الماضي وقد كان للمجهر الالكتروني النافذ الدور الكبير في دراسة التركيب الدقيق للخلية واكتشاف العديد من عضياتها المتناهية في الصغر والتي كان من المتعذر رؤيتها بواسطة المجهر الضوئي مثل الرايبوسومات (Ribosomes) والأجسام الهاضمة .(Lysosomes) ويتكون المجهر الالكتروني النافذ من مصدر الكترونات والذي تنبعث منه حزمة مكثفة من الالكترونات تمر خلال مكثف ثم تخترق حزمة الالكترونات العينة المراد فحصها والتي يشترط أن يتراوح سمكها بين 0.2 – 0.01 ميكرومتر، ثم تمر

الالكترونات بالعدسات الكهرومغناطيسية الشيئية فالعدسات الكهرومغناطيسية العينية حتى تصل إلى المسرح وهو عبارة عن شاشة فلوروسنتية (Fluorescent screen) والتي تصطدم بها الالكترونات وعليها تظهر صورة العينة فالأجزاء الكثيفة من العينة والتي لم تخترقها الالكترونات يمكن رؤيتها بألوان داكنة أما الأجزاء الرقيقة والتي نفذت منها الالكترونات فيمكن رؤيتها بألوان فاتحة وهكذا فان درجة التباين والوضوح تعتمد على كمية الالكترونات النافذة خلال العينة. أو يمكن طبع صورة العينة على فيلم بواسطة كاميرا.

2- المجهر الالكتروني الماسح (Scanning Electron Microscope)

وهو من المجاهر الحديثة. تركيب المجهر الالكتروني الماسح والذي يشبه المجهر الالكتروني النافذ من حيث مصدر الإضاءة والعدسات المستخدمة، إلا أنه يختلف عن النافذ في كيفية إظهار صورة العينة. حيث يعتمد إظهار الصورة في هذا النوع من المجاهر الالكترونية على الالكترونات المرتدة من على سطح العينة لتظهر على شاشة تلفزيونية. وعادة ما يستخدم المجهر الالكتروني الماسح في دراسة العينة كاملة أو جزء منها لذلك لا يشترط أن تكون العينات رقيقة .

المجهر الضوئي

ويتكون من الأجزاء الآتية:

1- **الأنظمة الساندة The Support system** وتشمل المجموعة الساندة: القدم Foot والذراع Limb والقرص الدوار Objective Changer والمسرح Stage والمسرح المتحرك Mechanical stage .

2- أنظمة التكبير Magnification system

وتضم هذه المجموعة نظاما مكونا من العدسات على جهتي الجسم الأنبوبي تقع المجموعة الأولى أسفل الجسم الأنبوبي Body tube وتكون قريبة من النموذج المفحوص وتسمى العدسات الشيئية The objective lenses وتتوزع على مجموعتين هما :

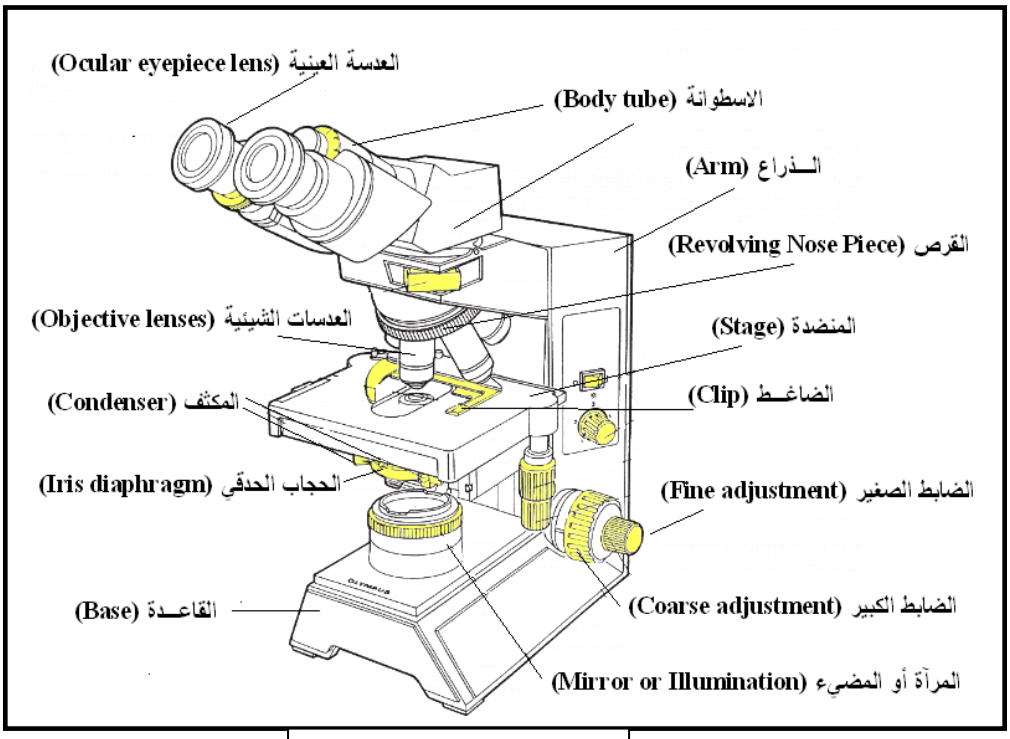
Fig. 3.3 Objective lenses

A- العدسات ذات قوة التكبير الصغرى وتشمل:

- **العدسة الاولى وتكبر 4 مرات (×)4**
- **العدسة الثانية وتكبر 10 مرات (×10)**
- **العدسة الثالثة وتكبر 40 مرة (×40)**

B- العدسة ذات قوة التكبير العظمى وتكبر 100 مرة(×100) وتسمى العدسة الزيتية Oil immersion

ملاحظة : تتغاير اعداد العدسات (3-5) عدسة حسب نوع المجهر



المجهر الضوئي

قوة تمييز العدسة ومسافة العمل Working distance & Resolving power

قوة التمييز **Resolving power** هي اقرب مسافة بين جسمين يمكن فيها رؤية هذين الجسمين كجزئين منفصلين واعلى قوة تمييز لافضل المجاهر الطبية حوالي

(0.25μM) (قوة تمييز عين الانسان الطبيعية (0.25M) .

ملاحظة : يعمل الزيت المستخدم في العدسة الشيئية الزيتية (×100) على زيادة قوة التمييز وذلك بتعديل معامل الانكسار للاشعة الساقطة على الاجسام بالاضافة الى تسليط حزمة من هذه الاشعة على النموذج .

مسافة العمل **Working distance** المسافة المحصورة بين مقدمة العدسة الشيئية والنموذج عندما تكون الصورة في البعد البؤري المناسب وتتغير مسافة العمل تبعا لنوع العدسة الشيئية وهي كالاتي :

- العدسة×10تكون المسافة (5-6 ملم)
- العدسة ×40 تكون المسافة (0.5- 1.5ملم)
- العدسة × 100 تكون المسافة (0.15- 0.20 ملم)

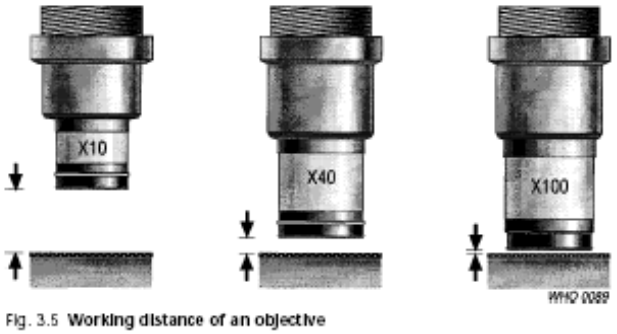


Fig. 3.5 Working distance of an objective

اما المجموعة الثانية التي تقع على قمة الجسم الانبوبي وتكون قريبة من عيني الفاحص وتسمى العدسات العينيةEye piece وهناك انواع منها (×5& ×10& × 12&×15) ويمكن استخراج قوة التكبير النهائية للمجهر بضرب قوة تكبير العدسة العينية × قوة تكبير العدسة الشيئية ، فمثلا في حال استخدام العدسة العينية×10 والتي تكبر عشر مرات مع العدسة الشيئية ×40 يمكن استخراج قوة التكبير بضرب 10×40=400

وبذلك تتراوح قوة التكبير للمجاهر بين (50-1000) مرة وعادة ما تزود المجاهر بعدة عينية واحدة Monocularولكن في احيان كثيرة تزود المجاهر بعدستان عينيتان Binocular ولكنها تظهر صورة واحدة للنموذج .

3- انظمة الاضاءة The Illumination System وتشمل :

- مصدر الاضاءة Light Source : ويفضل استخدام مصدر اضاءة كهربائي ويجب ان يكون قابل لتعديل كمية الاضاءة ومسيطر على هذة الكمية بمفتاح خاص، ولكن بالامكان استخدام مرأة لامة للاشعة لتسليط الاضاءة على النموذج .

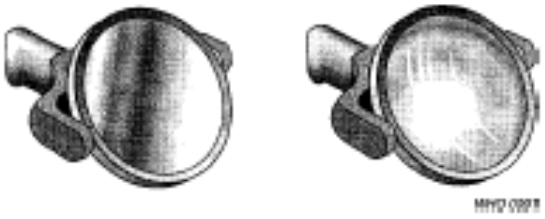


Fig. 3.7 A microscope mirror

-المكثف Condenser

Fig. 3.8 A condenser

والمكثف يعمل على جمع الاشعة وتسليطها على البؤرة الموجودة على النموذج الكائن بين المصدر الضوئي والعدسة الشيئية ،كما ويمكن تغيير موقع المكثف من خلال عتلة مخصصة لهذا الغرض .

- الحجاب الحاجز Diaphragm

يقع الحجاب الحاجز تحت المكثف ويستخدم لاختزال او زيادة كمية الاضاءة المارة خلال المكثف ويمكن التحكم بالفتحة من خلال عتلة معدة لهذا الغرض .

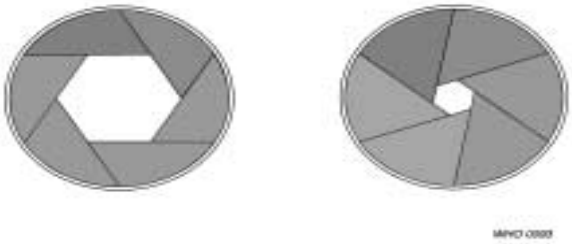


Fig. 3.9 A diaphragm

- المرشح Filter

تزود كثير من المجاهر التي تكون اضاءتها صفراء اللون بمرشحات(زرقاء اللون) توضع مباشرة تحت المكثف ووظيفتها هي تحويل اللون الاصفر الى لون ابيض .

4- انظمة التعديل The Adjustment System وتشمل:

- المقرب الكبير (الخشن) Coarse Adjustment Screw ويستخدم لتحريك المسرح (الشريحة) حركة سريعة وكبيرة .

- المقرب الصغير (الدقيق) Fine Adjustment Screw ويستخدم لتحريك المسرح (الشريحة) حركة بطيئة وصغيرة ووضع النموذج في البعد البؤري المضبوط جدا .

- معدل المكثفCondenser Adjustment Screw ويستخدم لرفع المكثف للحصول على اضاءة عالية او خفظه لاختزل الاضاءة

- معدل المسرح الميكانيكي Mechanical stage Controls ويستخدم لتحريك الشريحة على المسرح الى الامام والخلف واليمين واليسار

تعديل البؤرة للنماذج Focusing the objective

لتعديل بؤرة اي نموذج على المجهر يتم اولا انزال المكثف الى اخر القاعدة بواسطة معدل المكثف ثم يعدل البعد البؤري بواسطة المعدل الكبير الى حد الحصول على صورة للنموذج ثم يتم توضيح الصورة بواسطة المعدل الدقيق هذا في حالة الفحص على العدسات (40,10,4) اما في حالة استخدام العدسة ×100 فيتم اولا وضع قطرة صغيرة من زيت العدسة × 100 (زيت السدر Cedar wood oil) ثم يرفع المكثف الى اعلى مايكون بواسطة معدل المكثف ثم يتم فتح الحاجز كليا وانزال العدسة بحيث تلامس قطرة الزيت ثم يحرك المقرب الدقيق حركة بطيئة الى حد الحصول على صورة واضحة ومن المهم التذكير بان دائرة الضوء التي يمكن مشاهدتها تسمى الحقل المجهري Microscope field ويمكن تحديد النموذج الموجود في الحقل المجهري بواسط استعمال تقنية الساعة ومثا ل ذلك فان موقع الصورة في الحقل المجهري الموضح في ادناه هو الساعة 2 .

ملاحظة : من الضروري ذكر ان النموذج المشاهد في الحقل المجهري على اليمين هو بالحقيقة على اليسار والنموذج الموجود في الاسفل هو في الحقيقة يقع في الاعلى والعكس صحيح .

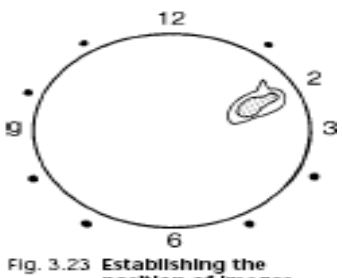


Fig. 3.23 Establishing the position of images seen under the microscope

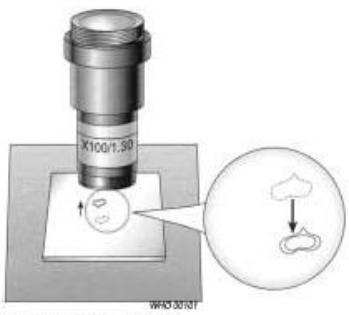


Fig. 3.24 Moving the object

القياسات المجهرية Use of Ocular micrometer

Fig. 3.25 An ocular micrometer disc

Fig. 3.26 Calibration of an ocular micrometer with a stage micrometer

ان حجم او ابعاد الاحياء المجهرية الدقيقة يمكن قياسها باستخدام عدسة عينية مزودة بمقياس مقسم الى (0.1mm & 0.01mm) وتستخدم كذلك شريحة حاوية على مقياس لغرض معايرة مقياس العدسة العينية وتتم المعايرة كالاتي :

- انزع العدسة العينية من مكانها
- ضع العدسة العينية الحاوية على مقياس العدسة العينية في مكانها في المجهر
- ضع المقياس الخاص بالشريحة على المسرح ثم قم باظهار الصورة
- ضع خط الـ (0) لمقياس العدسة العينية بتطابق تام مع مقياس المسرح كما موضح بالشكل
- حدد اول خط على مقياس المسرح يتطابق مع اي من خطوط العدسة العينية
- استخدم المعادلة الاتية لمعرفة قيمة خط مقياس العدسة العينية .

$$\text{حجم خط مقياس العدسة العينية} = \frac{\text{خط تطابق المسرح} \times \text{mm} \; 1000\ \mu M}{\text{قراءة العدسة العينية} \; (50\ \mu M) \times 1\text{mm}}$$

وحدات القياس المجهري

يستخدم النظام المتري Metric system في قياس الأبعاد المجهرية، ووحدة هذا النظام هي المتر ـ الديسمتر ـ السنتمتر ـ المليمتر، وكل وحده منها تنتسب إلى الأخرى بالمعامل 10، فمثلاً المتر= 10ديسم = 100سم = 1000ملم.

ونظرًا لأن الأحياء الدقيقة ومكوناتها التى تدرس بالمجهر متناهية الصغر، فإن الوحدات المستعملة فى قياسها هي وحدات دقيقه جدًا ومنها: الميكرومتر Micrometer، النانومتر Nanometer، الأنكستروم Angestrom.

فمثلاً:

الميكرومتر mμ والذي كان يُعرف فى السابق باسم الميكرون(μ)= 10^{-6} من المتر).

النانومتر nm والذي كان يُعرف فى السابق باسم المليميكرون (μm) وهو = 10^{-9} من المتر.