

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟ ΜΑΘΗΜΑ 153
ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗ ΟΡΓΑΝΩΣΗ ΦΥΤΙΚΩΝ ΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΑΣΚΗΣΗ 01
ΤΟ ΟΠΤΙΚΟ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΟ

αρχές λειτουργίας, τεχνικά χαρακτηριστικά, μετρήσεις



Δρ. Ελευθερία Φανουράκη

Δομή του μαθήματος

Τρίτη, Τετάρτη 12:00-15:00 και Πέμπτη 09:00-12:00

Εργαστήριο Α

ΟΙ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΑΣΚΗΣΕΙΣ

	(ΒΙΟΛ-153) ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗ ΟΡΓΑΝΩΣΗ ΦΥΤΙΚΩΝ ΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ
20-22/2/24	1 Lab1. Το μικροσκόπιο και τα τεχνικά χαρακτηριστικά του, μέτρηση κυττάρων
27-29/2/24	2 Lab2. Το φυτικό κύτταρο 1. Πυρήνας, κυτταρικό τοίχωμα, πλασματική μεμβράνη. Μίτωση
5-7/3/24	3 Lab3. Το φυτικό κύτταρο 2, Πλαστίδια, χυμοτόπια, έγκλειστα
12-14/3/24	4 Lab4. Ιστολογία Ι. Επιδερμίδα
19-21/3/24	5 Lab5. Ιστολογία ΙΙ. Μεριστωματικός, παρεγχυματικός, σκληρεγχυματικός ιστός
26-28/3/24	6 Lab6. Ιστολογία ΙΙΙ. Αγωγός ιστός
	7 ΠΡΟΟΔΟΣ (Πρακτικό μέρος) 30% Τελικού Βαθμού Βαθμού Βαθμού
2-4/4/24	8 Lab7. Ανατομία Βλαστού. Πρωτογενής και δευτερογενής ανάπτυξη BBC, Attenborough “Growing”
9-11/4/24	9 Lab8. Ανατομία Φύλλου
16-18/4/24	10 Lab9. Ανατομία Ρίζας
23-25/4/24	11 Lab10. Ανατομία Ανθους BBC, Attenborough “Flowering”
29/4 έως 12/5	Διακοπές Πάσχα
14-16/5/24	12 Lab11. Ανασκόπηση-Συζήτηση-Προβολή βίντεο BBC, Attenborough: “Travelling και “Surviving”

- <https://edpuzzle.com/assignments/62127ecbaa9e8542912759f9/watch>
- Class: **Δομή και Λειτουργική Οργάνωση Φυτικών Οργανισμών**
- Class code: **liuteom**

Όραση

Ανθρώπινο μάτι

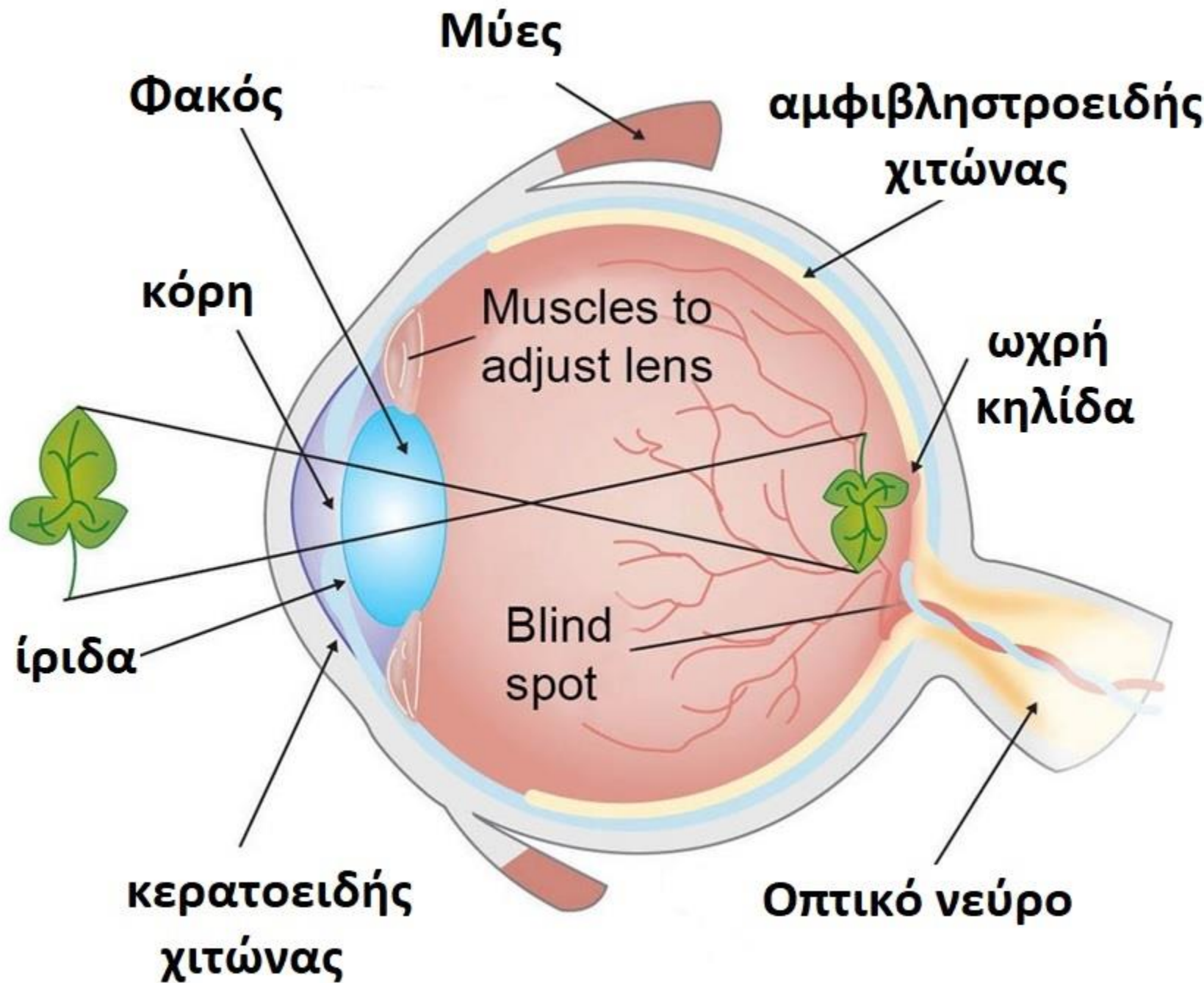
Ερέθισμα



Υποδοχέας

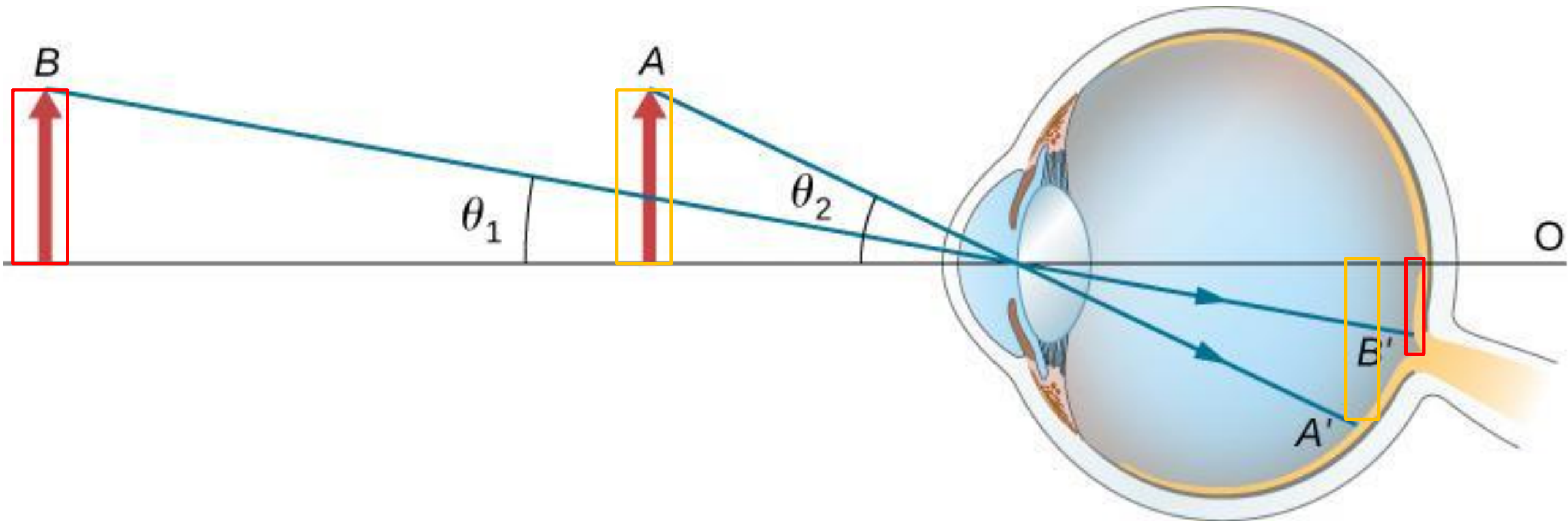


Εγκέφαλος

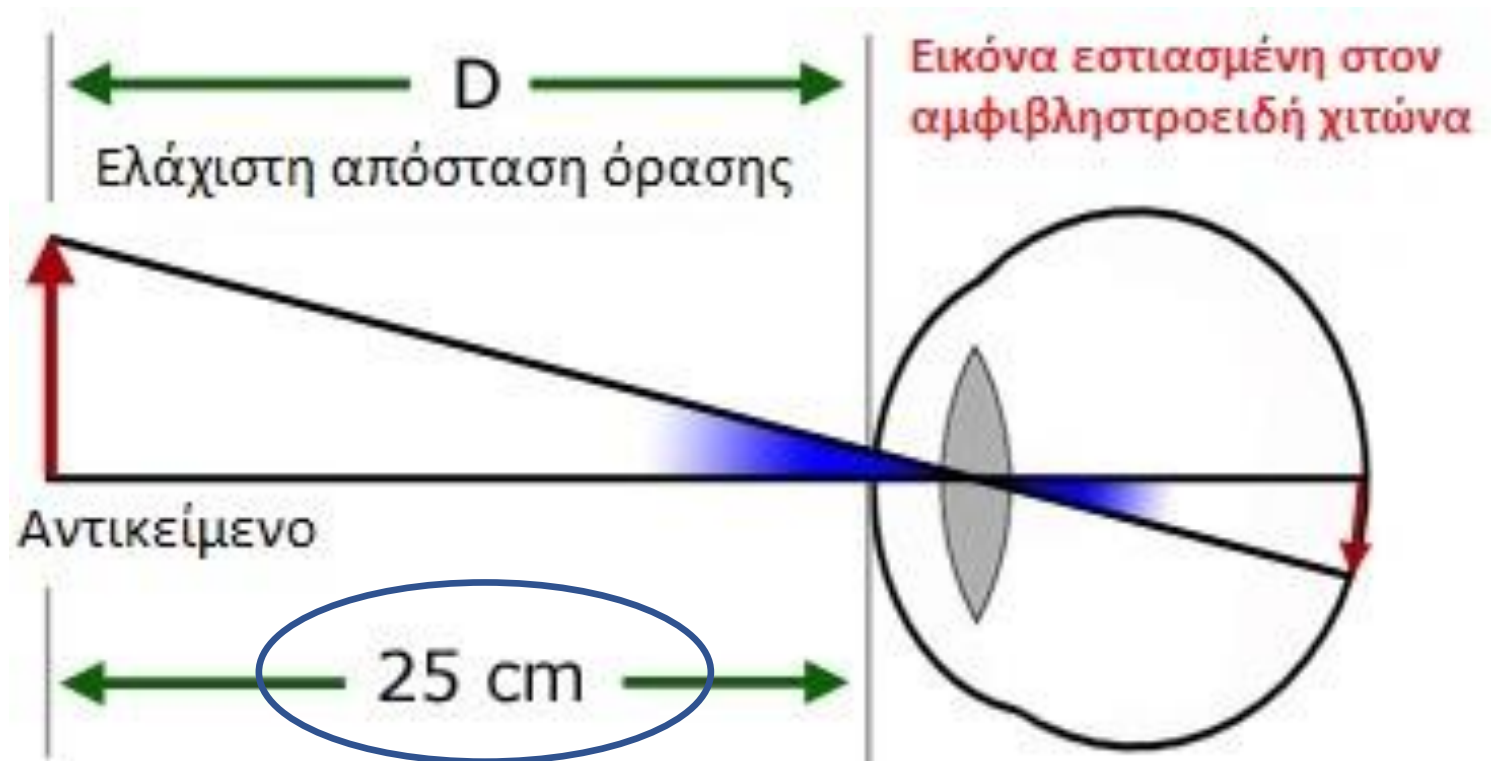


Πώς μπορώ να βελτιώσω την παρατήρηση αντικειμένου;

★ Πλησιάζω το αντικείμενο



Πόσο κοντά πλησιάζω το αντικείμενο;

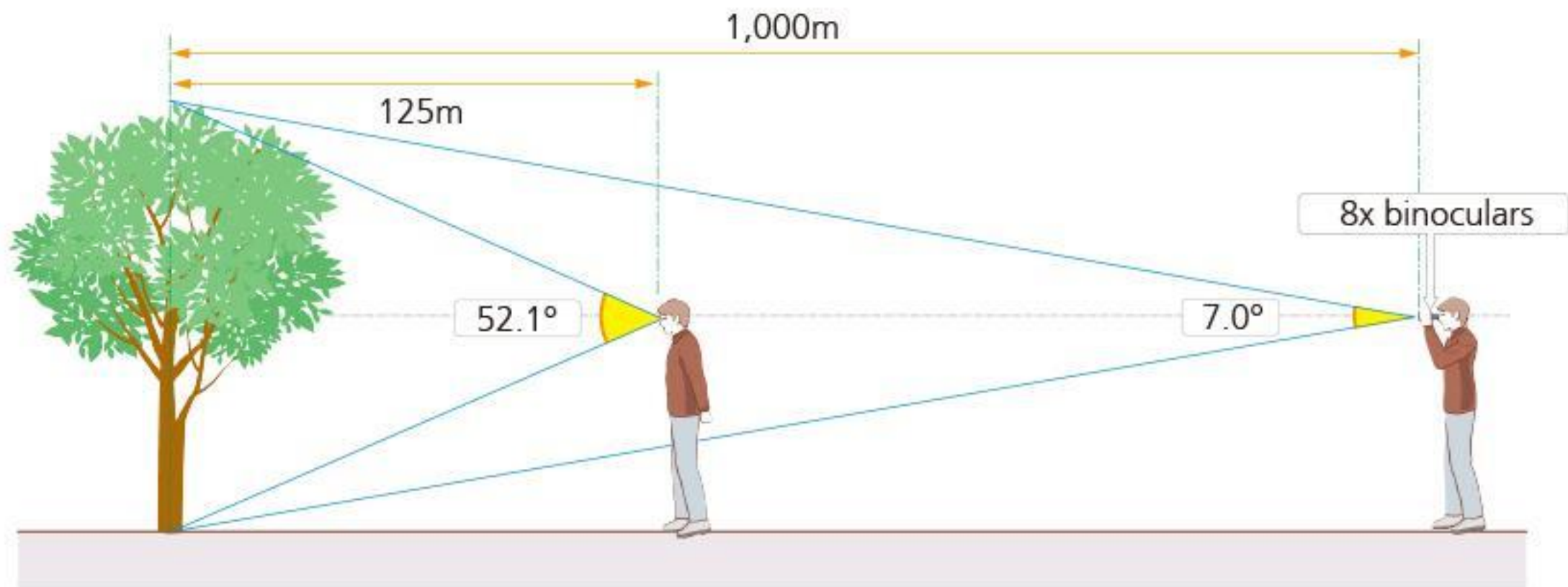




gettyimages®
Jose Luis Pelaez Inc

145062064

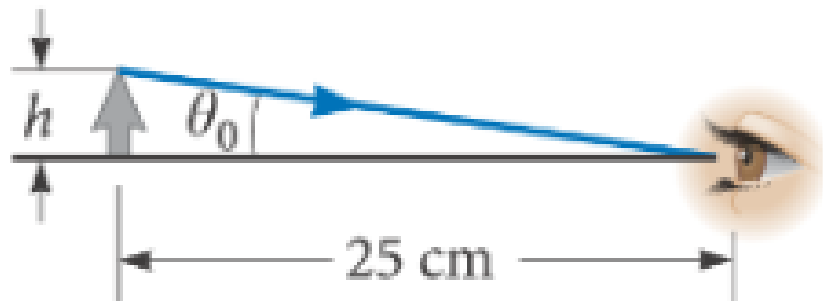




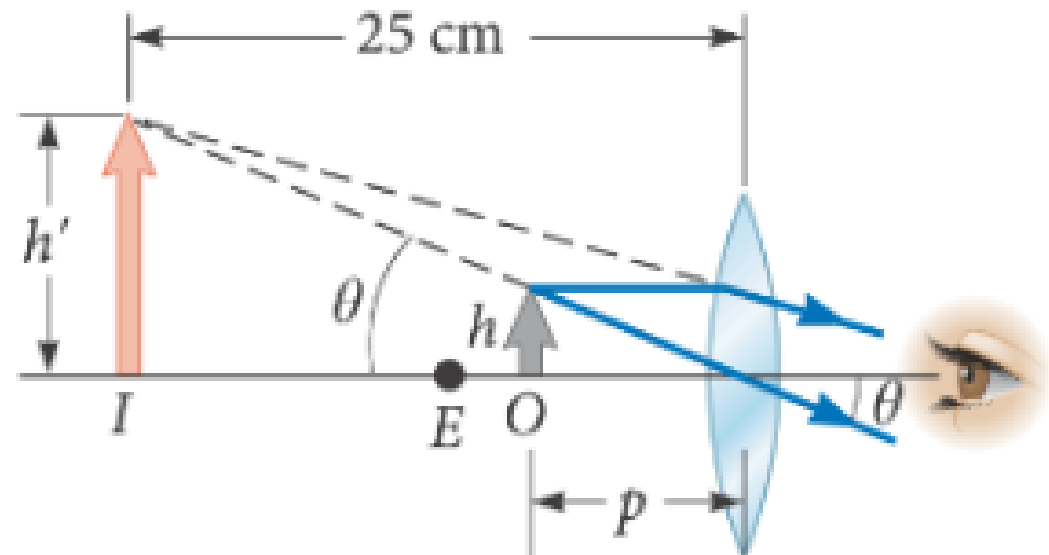


Χρειάζομαι βοήθεια για να πλησιάσω περισσότερο;

- Μεγεθυντικός Φακός (+1 φακό)



α



β



opticon

10x 23mm

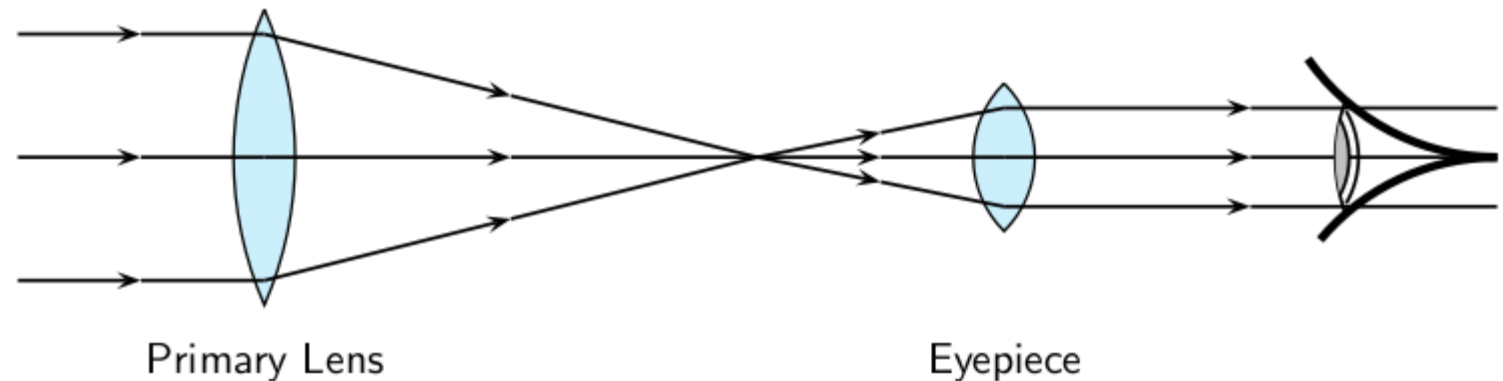




Χρειάζομαι βοήθεια για να πλησιάσω περισσότερο;

- Σύνθετος φακός (+2 φακούς)

**Αντικείμενο
παρατήρησης**





1m	10cm	1cm	1mm	100 μ m	10 μ m	1 μ m	100nm	10nm	1nm	0.1nm
1m	10 ⁻¹ m	10 ⁻² m	10 ⁻³ m	10 ⁻⁴ m	10 ⁻⁵ m	10 ⁻⁶ m	10 ⁻⁷ m	10 ⁻⁸ m	10 ⁻⁹ m	10 ⁻¹⁰ m



Eye



Light Microscope



Electron Microscope



child



hand



finger



hair



blood cell



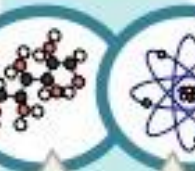
bacteria



virus



DNA



glucose



atom

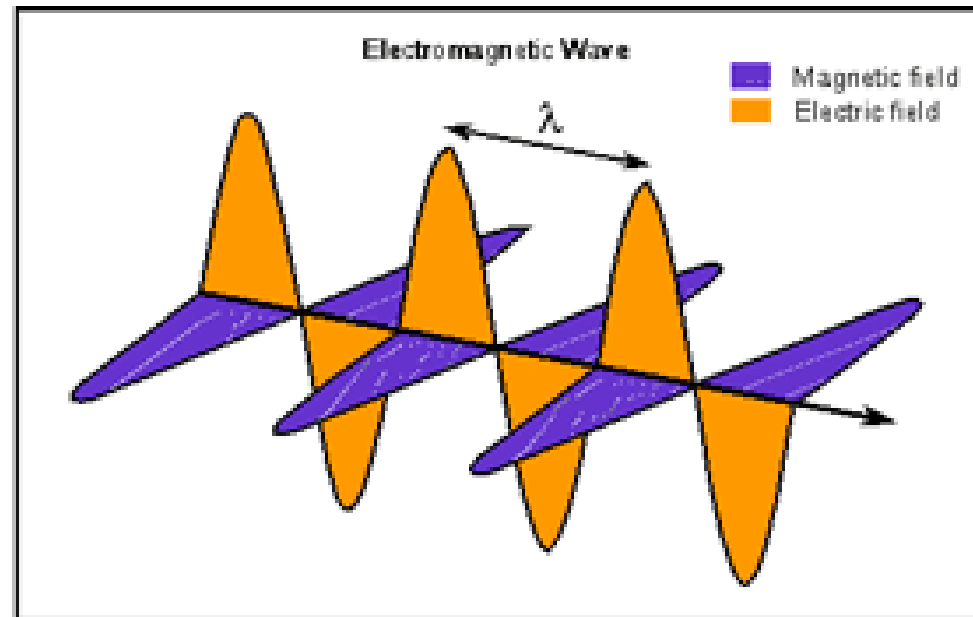
- Η διάμετρος του τυπικού ζωικού κυττάρου: 10-20 μm
- δηλαδή 10-20 φορές μικρότερη από την ικανότητα όρασης του ανθρώπου.

ΤΟ ΟΠΤΙΚΟ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΟ



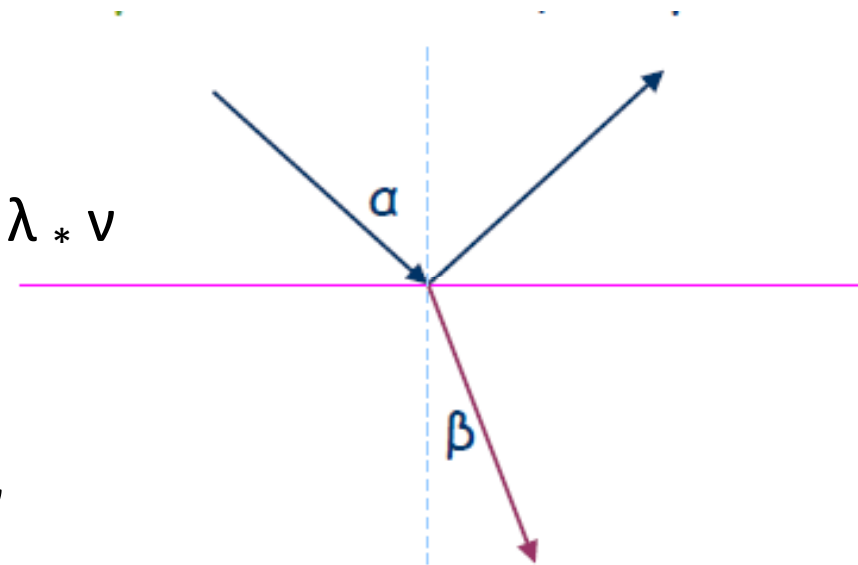
χρησιμοποιεί το ηλεκτρομαγνητικό φάσμα του ορατού φωτός

(Μήκος κύματος $\lambda=400-700$ nm)



Ιδιότητες φωτός

- **Διάδοση** : το φως διαδίδεται ευθύγραμμα με ταχύτητα $c = \lambda * \nu$
(όπου c - ταχύτητα του φωτός, ν - συχνότητα και λ - το μήκος κύματος)
- **Ανάκλαση** : η μεταβολή της διεύθυνσης και της φοράς των ακτινών μετά την πρόσπτωση τους σε ανακλαστική επιφάνεια.
Η γωνία ανάκλασης ισούται με τη γωνία πρόσπτωσης (α)
- **Διάχυση** : η ανάκλαση του φωτός σε ανώμαλες επιφάνειες.
- **Διάθλαση** : όταν το φως προσπίπτει στην επιφάνεια διαχωρισμού δύο μέσων, στα οποία η ταχύτητα διάδοσής του είναι διαφορετική, εκτρέπεται από την πορεία του. Η γωνία διάθλασης (β) εξαρτάται από το είδος του υλικού



Δείκτης διάθλασης: $n = C_0 / C$

C_0 : Ταχύτητα στο κενό, C : ταχύτητα στο μέσο

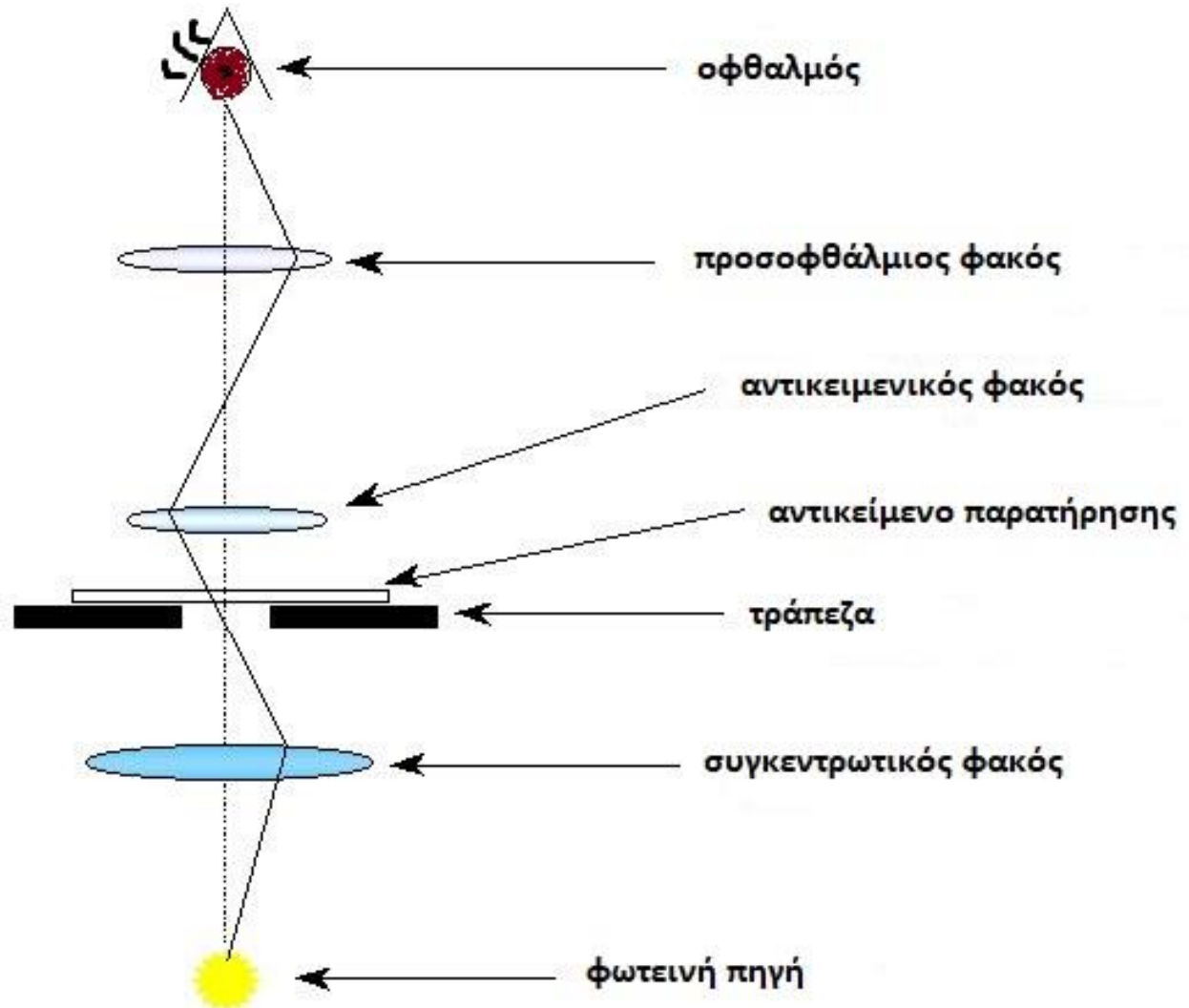
Κύρια τεχνικά χαρακτηριστικά (specifications) του μικροσκοπίου

1. Μεγέθυνση

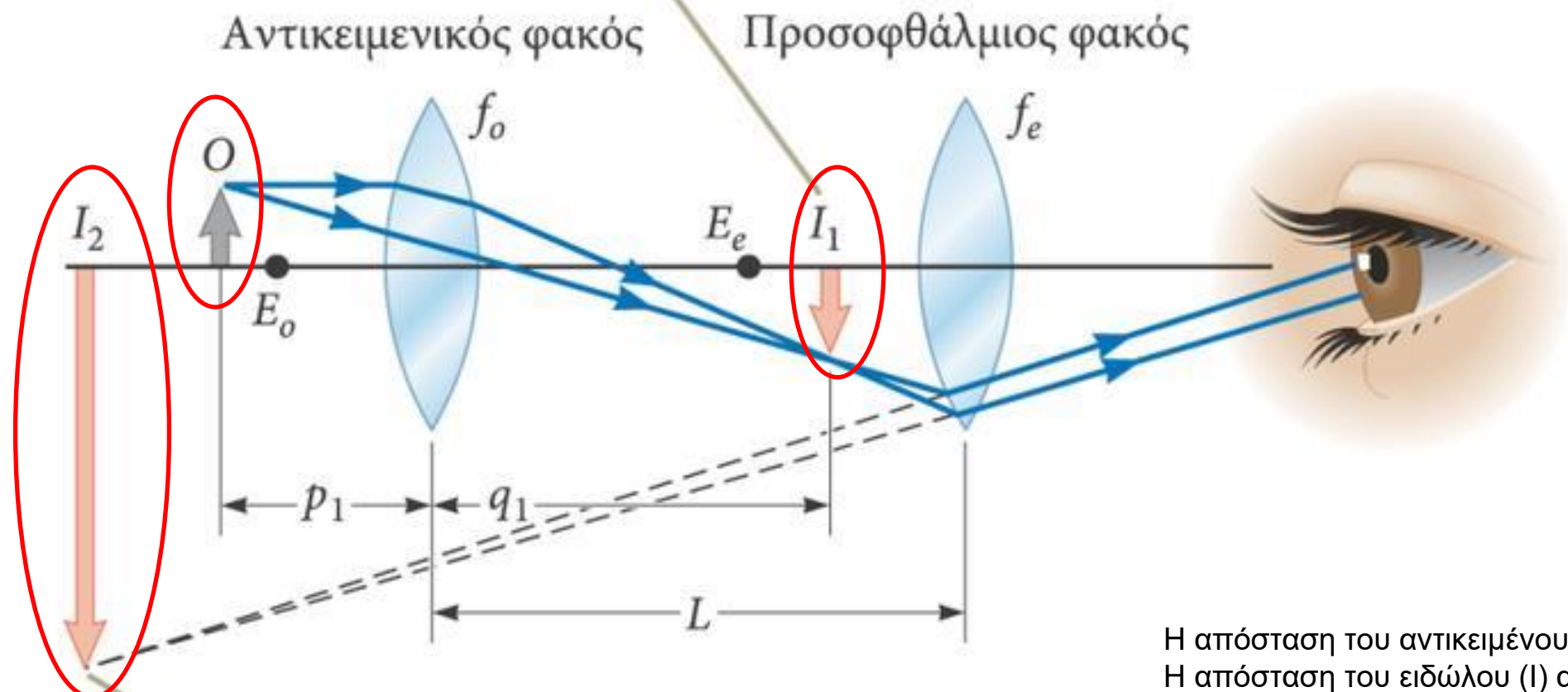
2. Ανάλυση (Resolution)

Τα σύγχρονα φωτονικά μικροσκόπια μεγεθύνουν μέχρι 1.000 - 2.000 φορές και

η διακριτική τους ικανότητα φτάνει τα 0,2 μm με τον καταδυτικό φακό σε κεδρέλαιο.



Ο αντικειμενικός φακός
σχηματίζει ένα είδωλο εδώ.

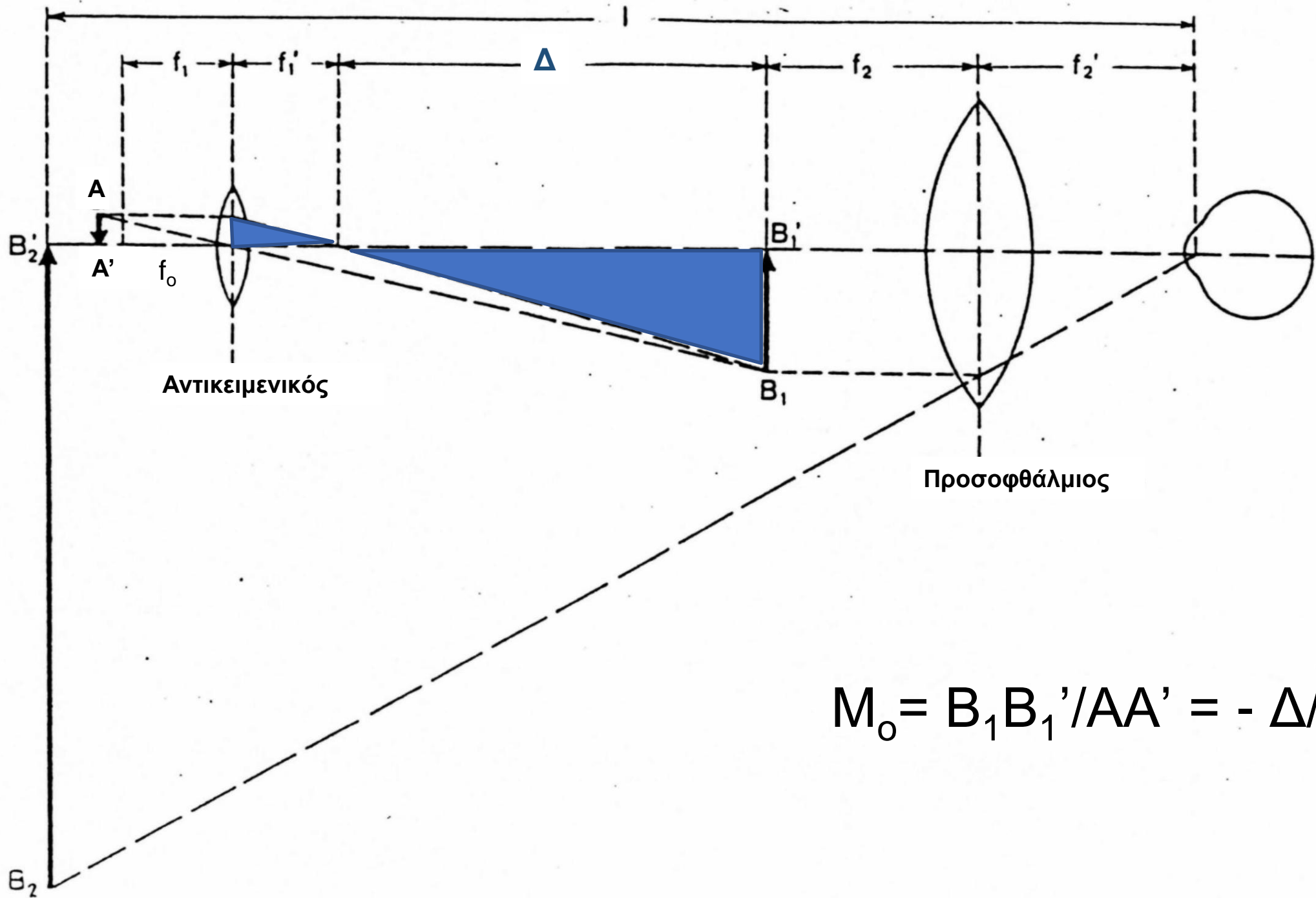


Η απόσταση του αντικειμένου (O) από τον φακό (p)
Η απόσταση του ειδώλου (I) από τον φακό (q)

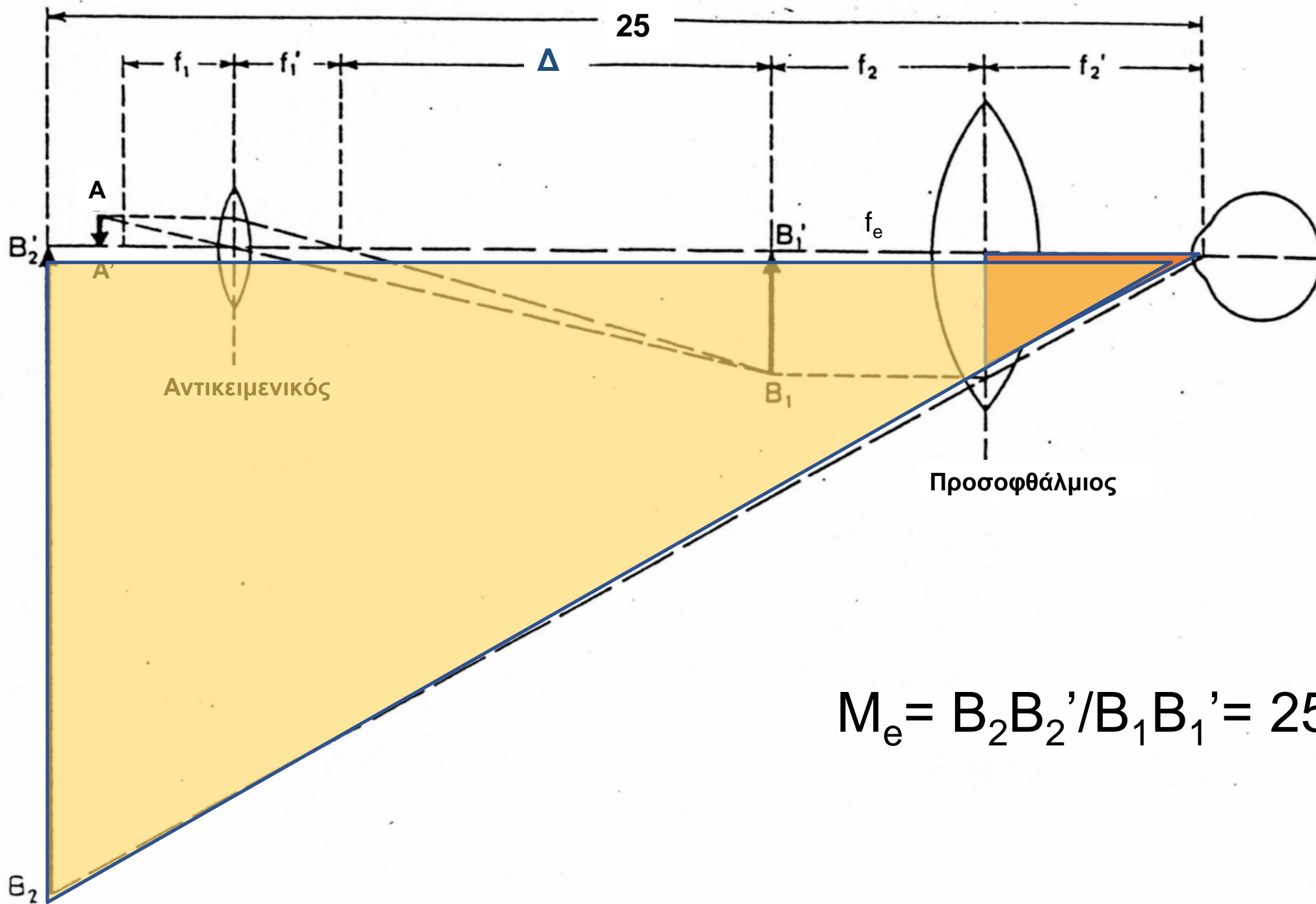
Ο προσοφθάλμιος φακός
σχηματίζει ένα είδωλο εδώ.

Το σύνθετο μικροσκόπιο

- Ο αντικειμενικός φακός έχει μικρή εστιακή απόσταση, $f_o < 1 \text{ cm}$
- Ο προσοφθάλμιος φακός έχει εστιακή απόσταση f_e λίγα cm
- Η απόσταση μεταξύ των δύο φακών, L , είναι πολύ μεγαλύτερη από τις εστιακές αποστάσεις των δύο φακών
- Το αντικείμενο βρίσκεται ακριβώς έξω από την εστία του αντικειμενικού φακού και σχηματίζει ένα πραγματικό, ανεστραμμένο είδωλο
- Το είδωλο αυτό βρίσκεται στην εστία του προσοφθάλμιου φακού ή κοντά σε αυτήν
- Το συγκεκριμένο είδωλο λειτουργεί ως αντικείμενο για τον προσοφθάλμιο φακό.
- Το τελικό είδωλο είναι φανταστικό, ανεστραμμένο, και πάρα πολύ μεγεθυμένο.

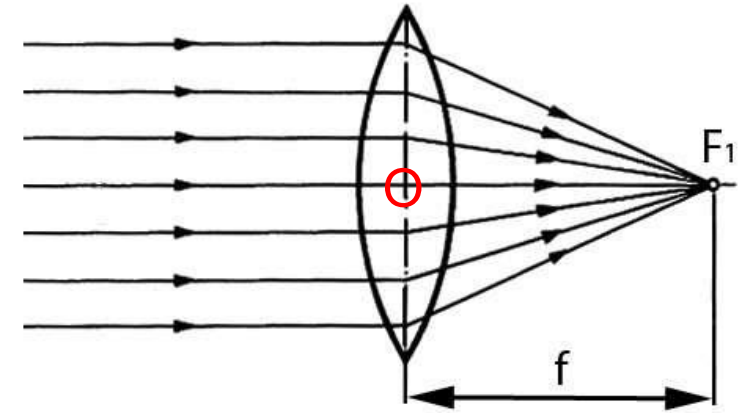


$$M_0 = B_1 B_1' / AA' = - \Delta / f_0$$



1. Μεγέθυνση (Magnification) Μικροσκοπίου

- Μεγέθυνση αντικειμενικού φακού : $M_o = - \Delta / f_o$
- Μεγέθυνση προσοφθάλμιου φακού : $M_e = 25 / f_e$
- Το πλην (-) υποδηλώνει ανεστραμμένο είδωλο
- Μεγέθυνση M μικροσκοπίου: γινόμενο μεγεθύνσεων προσοφθάλμιου και αντικειμενικού:
- $M = M_o * M_e = - \Delta / f_o * 25 / f_e = - 25 \Delta / f_o * f_e$
- Δ = η απόσταση του ενδιάμεσου ειδώλου από το εστιακό σημείο του αντικειμενικού φακού
- f_o = η εστιακή απόσταση του αντικειμενικού φακού (από το οπτικό κέντρο (O) έως την εστία (F1))
- f_e = η εστιακή απόσταση του προσοφθάλμιου φακού



ΠΙΝΑΚΑΣ 1: Τεχνικά Χαρακτηριστικά (specifications) του Οπτικού Μικροσκοπίου. Σελ. 7 φύλλο εργασίας

1	2	3	4	5	6	7	8
Μεγέθυνση Προσοφθάλμιου φακού WF Field No. 18 Me	Μεγέθυνση Αχρωματικού Αντικειμενικού φακού Mo	Μεγέθυνση μικροσκοπίου M	Αριθμητικό Άνοιγμα NA	Διάμετρος Οπτικού Πεδίου RV mm	Βάθος Πεδίου DF μm	Διακριτικό Όριο dmin μm	Απόσταση Εργασίας WD mm
10	4		0.10				20.0
	10		0.25				05.6
	20		0.40				2.23
	40		0.65				0.60
	100		1.30				0.14

$$d_{\min} = 0,61\lambda/NA, \lambda=550\text{nm}$$

Δραστηριότητα 1: Παρατήρηση τεχνικών χαρακτηριστικών φακών μικροσκοπίου

Παρατηρείστε τις μεγεθύνσεις του προσοφθάλμιου και των αντικειμενικών φακών του μικροσκοπίου σας και συμπληρώστε τη **στήλη 3** του **ΠΙΝΑΚΑ 1**.

Δραστηριότητα 2: Παρατήρηση του γράμματος β

- Παρατηρείστε με γυμνό μάτι το τυπωμένο γράμμα β σε ένα κομμάτι χαρτί
- Στη συνέχεια παρατηρείστε το γράμμα β με τη βοήθεια του μικροσκοπίου.
- Συγκρίνετε και σχεδιάστε το γράμμα β στις δυο περιπτώσεις.

Τι παρατηρείτε σε σχέση με

- την θέση,
 - το μέγεθος και
 - την ανάλυση της εικόνας του β;
- Μετακινήστε την αντικειμενοφόρο πλάκα εμπρός-πίσω/αριστερά-δεξιά.
Προς ποια κατεύθυνση μετακινείται κάθε φορά το είδωλο του γράμματος β;



β

1X



400X

2. Ανάλυση – Διακριτική ικανότητα (Resolution) Μικροσκοπίου

Η διακριτική ικανότητα του φακού (resolution) συμβάλλει στην οξύτητα ή ευκρίνεια του τελικού ειδώλου.

είναι αντιστρόφως ανάλογη του διακριτικού ορίου $R = 1 / d_{min}$

όπου το διακριτικό όριο ορίζεται ως η μικρότερη απόσταση που πρέπει να έχουν δύο σημεία ώστε να φαίνονται καθαρά στο είδωλο σαν ξεχωριστές κηλίδες.

$$\text{Διακριτικό όριο: } d_{min} = 0,61\lambda/NA$$

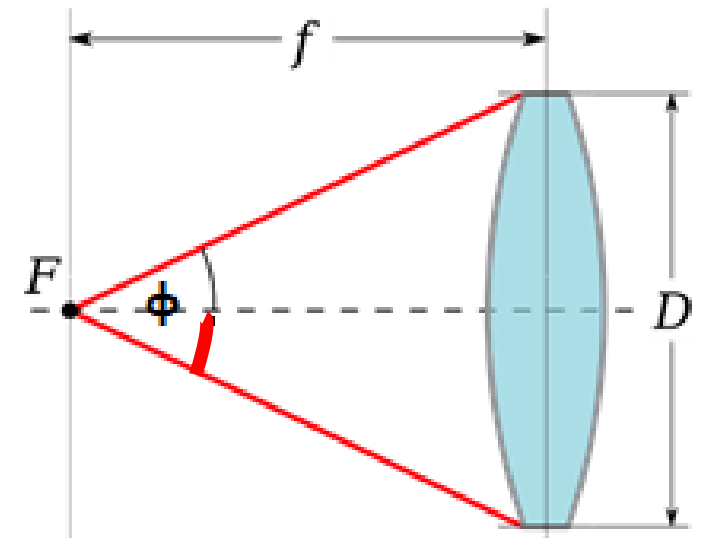
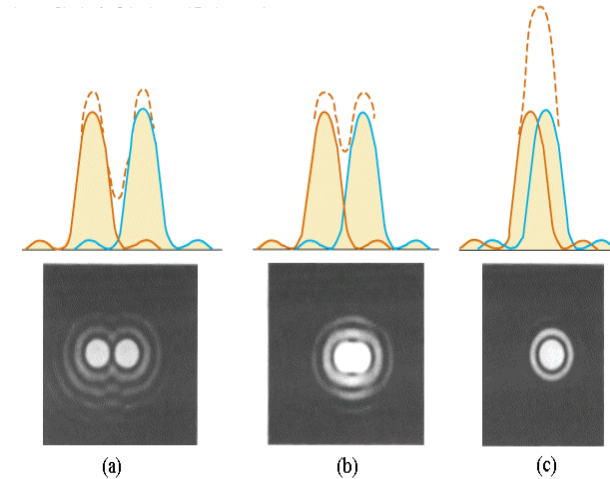
όπου λ = μήκος κύματος χρησιμοποιούμενου φωτός

NA = αριθμητικό άνοιγμα φακού (Numerical aperture)

$$NA = n * \eta\mu \frac{\phi}{2}$$

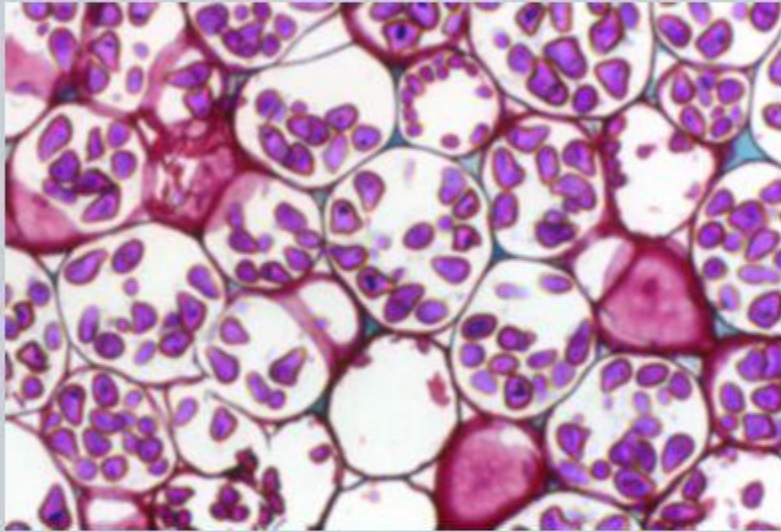
όπου n = δείκτης διάθλασης στον χώρο του αντικειμένου

ϕ = γωνιακό άνοιγμα φακού



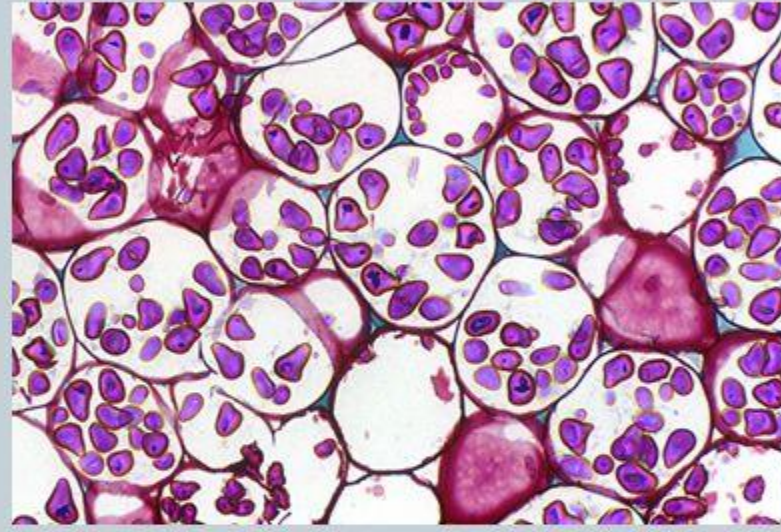


Lens Quality Improves Resolution



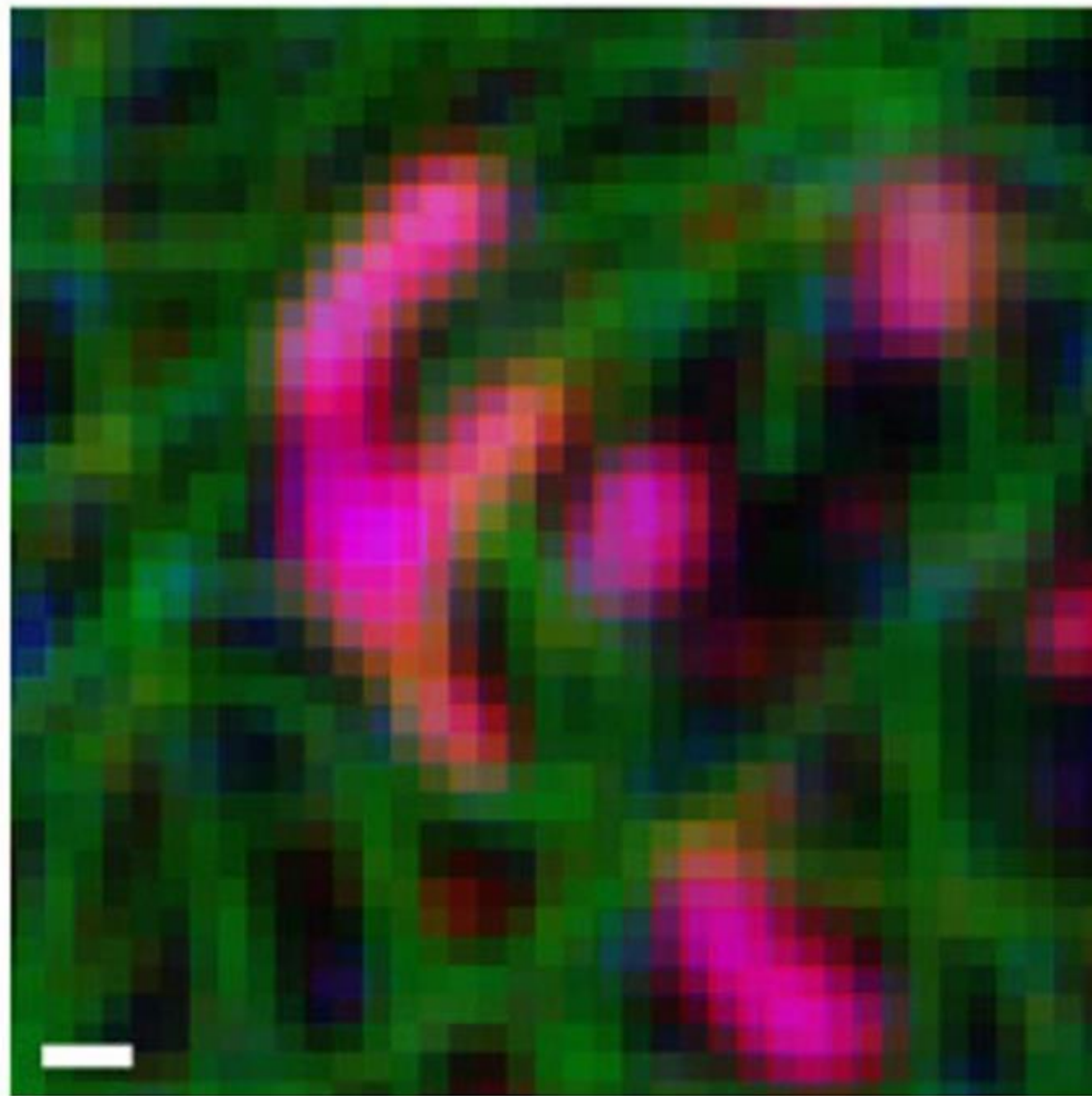
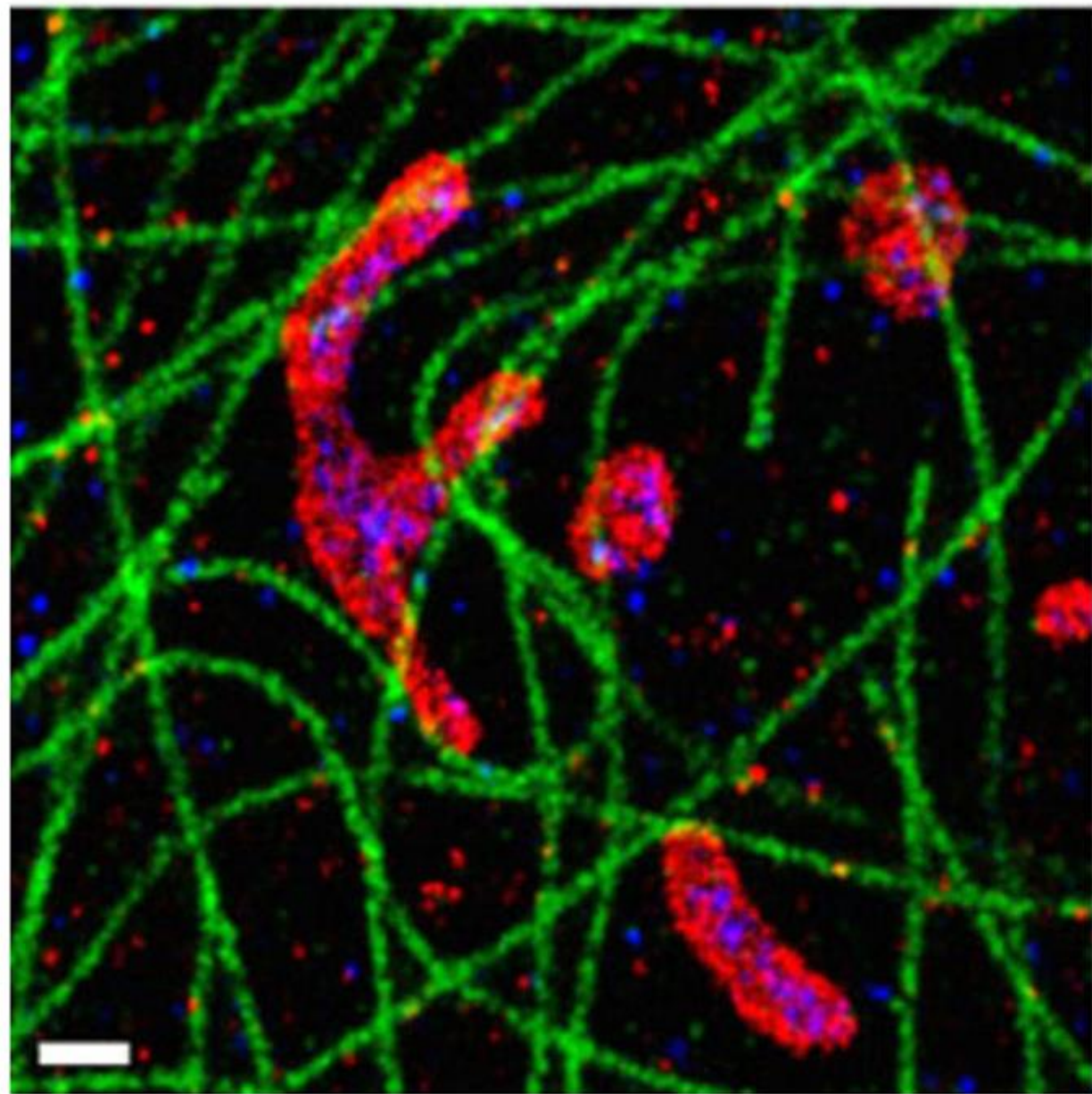
40X Magnification

Poor Quality Lens



40X Magnification

High Quality Lens
Better Resolution





Η Ανάλυση του Φακού/Μικροσκοπίου

$$\text{Resolution} = \frac{1}{d_{\min}}$$

A.....A

A.....A

A..A

AA

~~AA~~



Δραστηριότητα 3: Υπολογισμός διακριτικού ορίου αντικειμενικών φακών

- Υπολογίστε το διακριτικό όριο των φακών του μικροσκοπίου σας και συμπληρώστε τη **στήλη 7** του **ΠΙΝΑΚΑ 1**.

$$\text{Διακριτικό όριο: } d_{\min} = 0.61\lambda/\text{NA} \quad (\lambda = 550 \text{ nm})$$

Το NA δίνεται στη στήλη 4 του ίδιου πίνακα. **Προσέξτε τις μονάδες.**

- Από ποιους παράγοντες επηρεάζεται η ανάλυση των φακών;
- Ποιος φακός πιστεύετε ότι προσφέρει την καλύτερη ανάλυση;

ΠΙΝΑΚΑΣ 1: Τεχνικά Χαρακτηριστικά (specifications) του Οπτικού Μικροσκοπίου. Σελ. 7 φύλλο εργασίας

1	2	3	4	5	6	7	8
Μεγέθυνση Προσοφθάλμιου φακού WF Field No. 18 Me	Μεγέθυνση Αχρωματικού Αντικειμενικού φακού Mo	Μεγέθυνση μικροσκοπίου M	Αριθμητικό Άνοιγμα NA	Διάμετρος Οπτικού Πεδίου RV mm	Βάθος Πεδίου DF μm	Διακριτικό Όριο dmin μm	Απόσταση Εργασίας WD mm
10	4		0.10			3.36	20.0
	10		0.25			1.34	05.6
	20		0.40			0.84	2.23
	40		0.65			0.52	0.60
	100		1.30			0.26	0.14

$$d_{\min} = 0,61\lambda/NA, \lambda=550\text{nm}$$

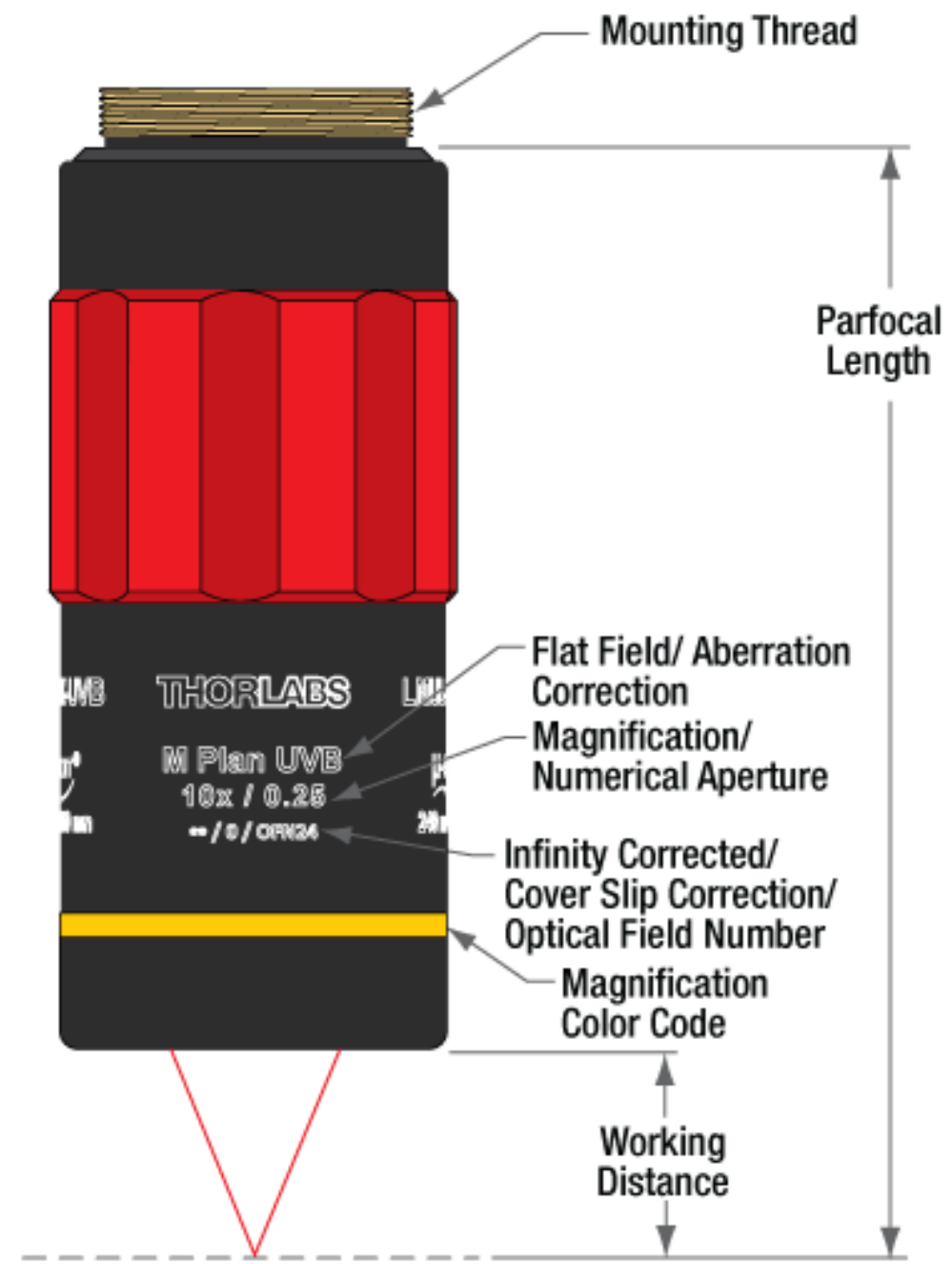
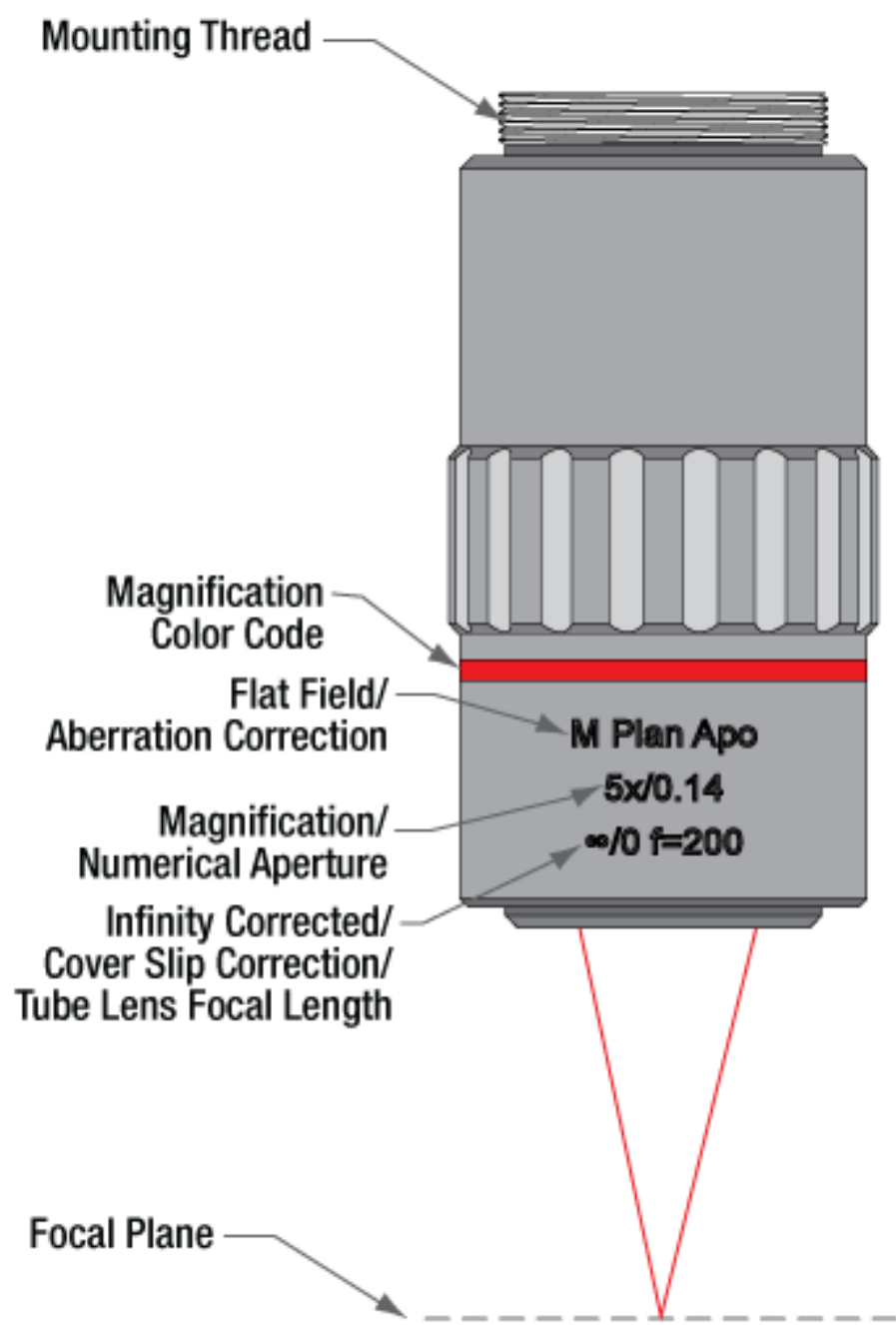
διακριτικό όριο αντικειμενικών φακών

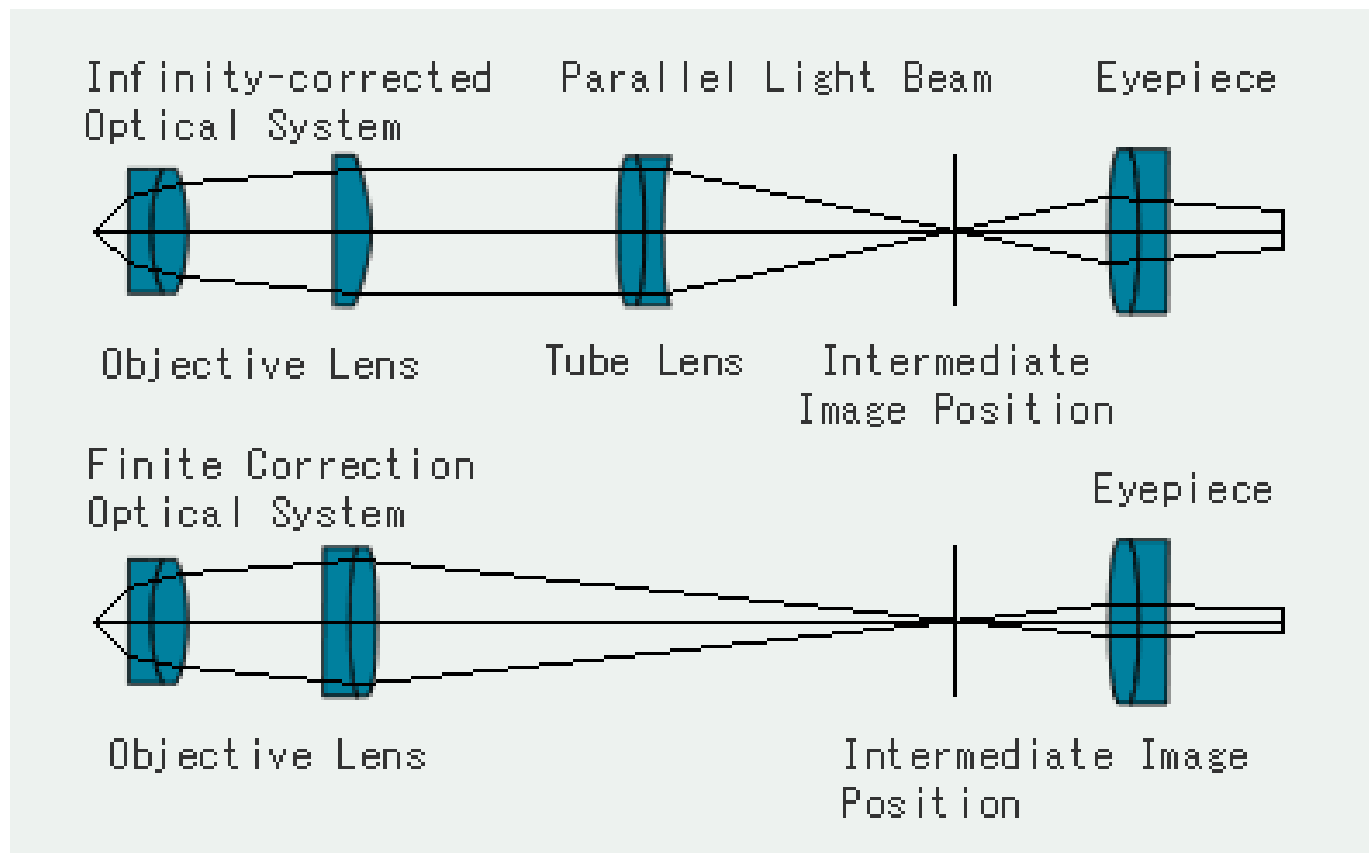
αντικειμενικός φακός X100: $NA=1,30$

- διακριτικό όριο $d_{\min} = 0,61\lambda/NA = 335,5/1,30 = 258,1 \text{ nm} = 0,258 \text{ }\mu\text{m}$
άρα η διακριτική ικανότητα είναι:
- $R = 1/0,258 = 3,875 \text{ }\mu\text{m}$ η μεγαλύτερη

αντικειμενικός φακός X4: $NA = 0,10$

- διακριτικό όριο $d_{\min} = 0,61/NA = 335,5/0,10 = 3355 \text{ nm} = 3,355 \text{ }\mu\text{m}$
άρα η διακριτική ικανότητα είναι:
- $R = 1/3,355 = 0,3 \text{ }\mu\text{m.}$ η μικρότερη



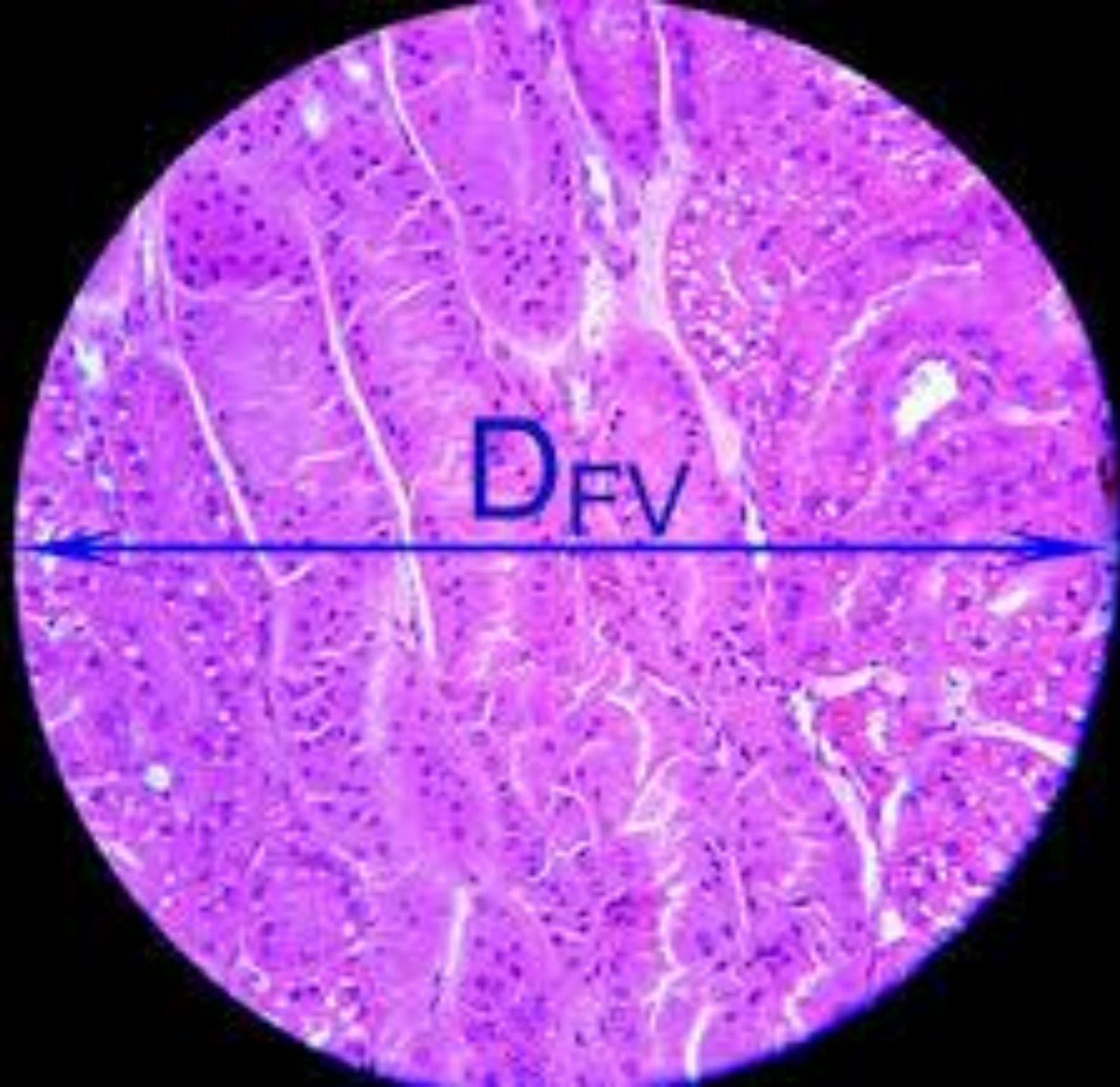


$$\varphi_i > \varphi \text{ αρα } NA_i > NA = n * \eta \mu \frac{\varphi}{2}$$

Ένας αντικειμενικός φακός διορθωμένος στο άπειρο είναι ένα σύστημα όπου μια δέσμη φωτός που προέρχεται από ένα δείγμα διέρχεται του αντικειμενικού φακού (και δεν δημιουργεί εικόνα) και βγαίνει ως παράλληλη δέσμη απείρου μέσω του σωλήνα του φακού, η οποία στη συνέχεια δημιουργεί μια ενδιάμεση εικόνα.

A circular field of view from a microscope. The background is a light pinkish-tan color. There are several blue and purple wavy lines scattered throughout, some resembling cilia or flagella. There are also a few red spots, one of which is larger and more prominent in the upper left quadrant. The text "Microscope Field of View" is overlaid in the center in a bold, black, sans-serif font.



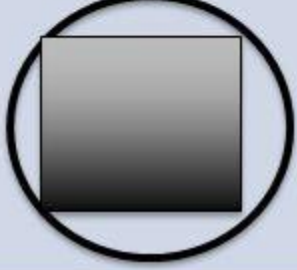
**Microscope
Field of View**



Πώς υπολογίζεται
η Διάμετρος του Οπτικού Πεδίου;

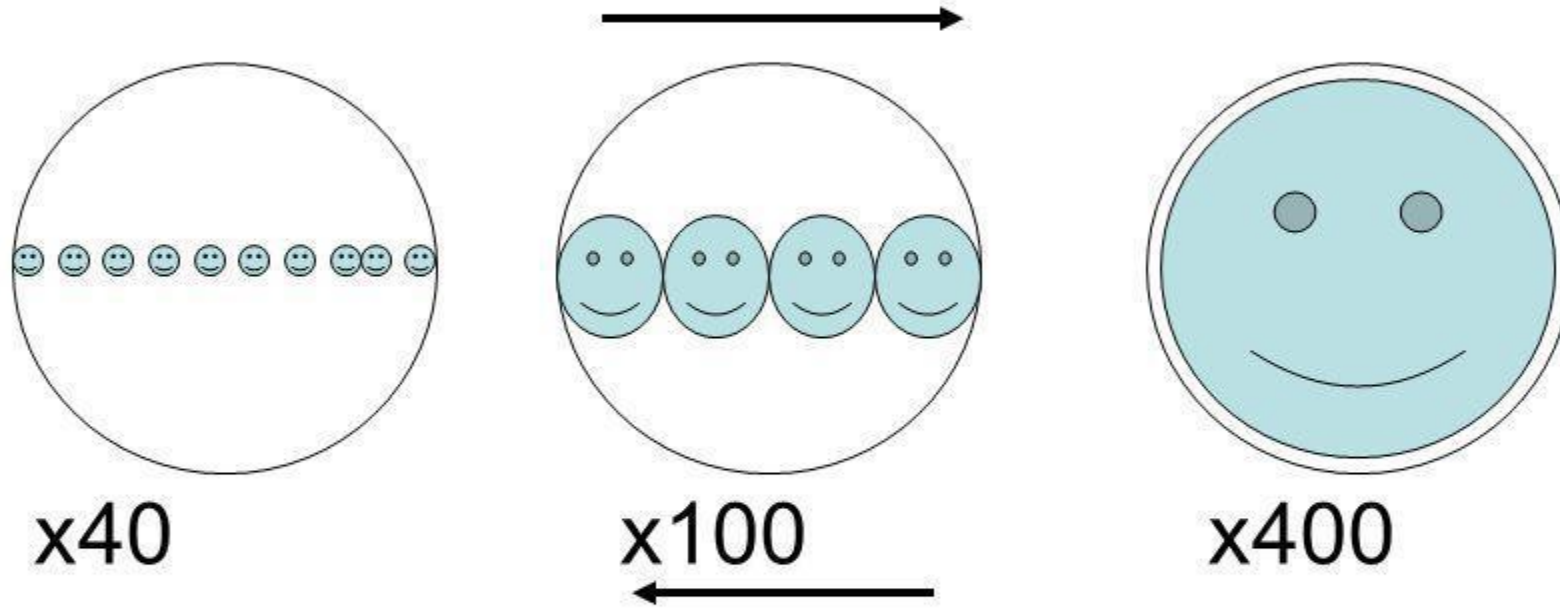
What happens to the field of view as magnification increases?

Field of view – the diameter of the field at different magnifications.

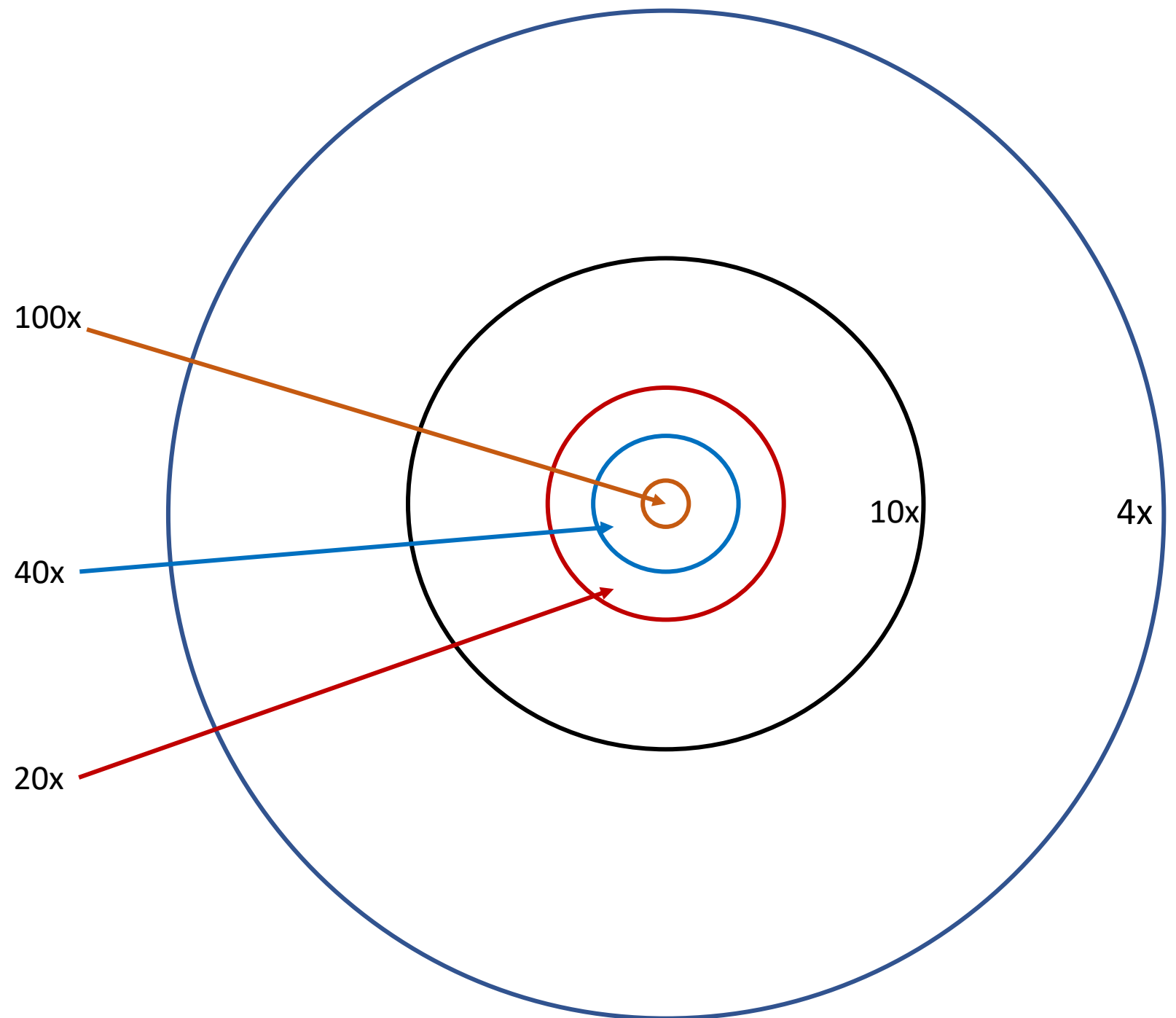
Total Magnification	Field of View (mm)	Field
40 X	7 mm	
100 X	3 mm	
400 X	1 mm	

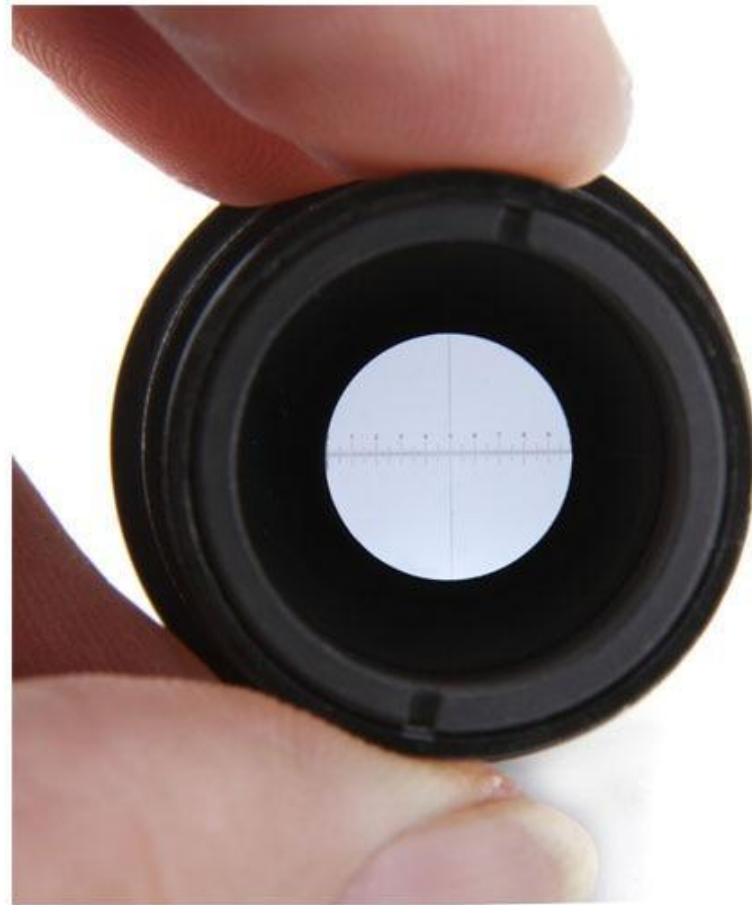
Magnification and field of view

As magnification **increases**, field of view **decreases** by the same factor



As magnification **decreases**, field of view **increases** by the same factor





Δραστηριότητα 4: Υπολογισμός διαμέτρου οπτικού πεδίου

Οπτικό Πεδίο: φωτεινός δακτύλιος/δίσκος/κύκλος που καλύπτει το δείγμα σε θέση εστίασης.

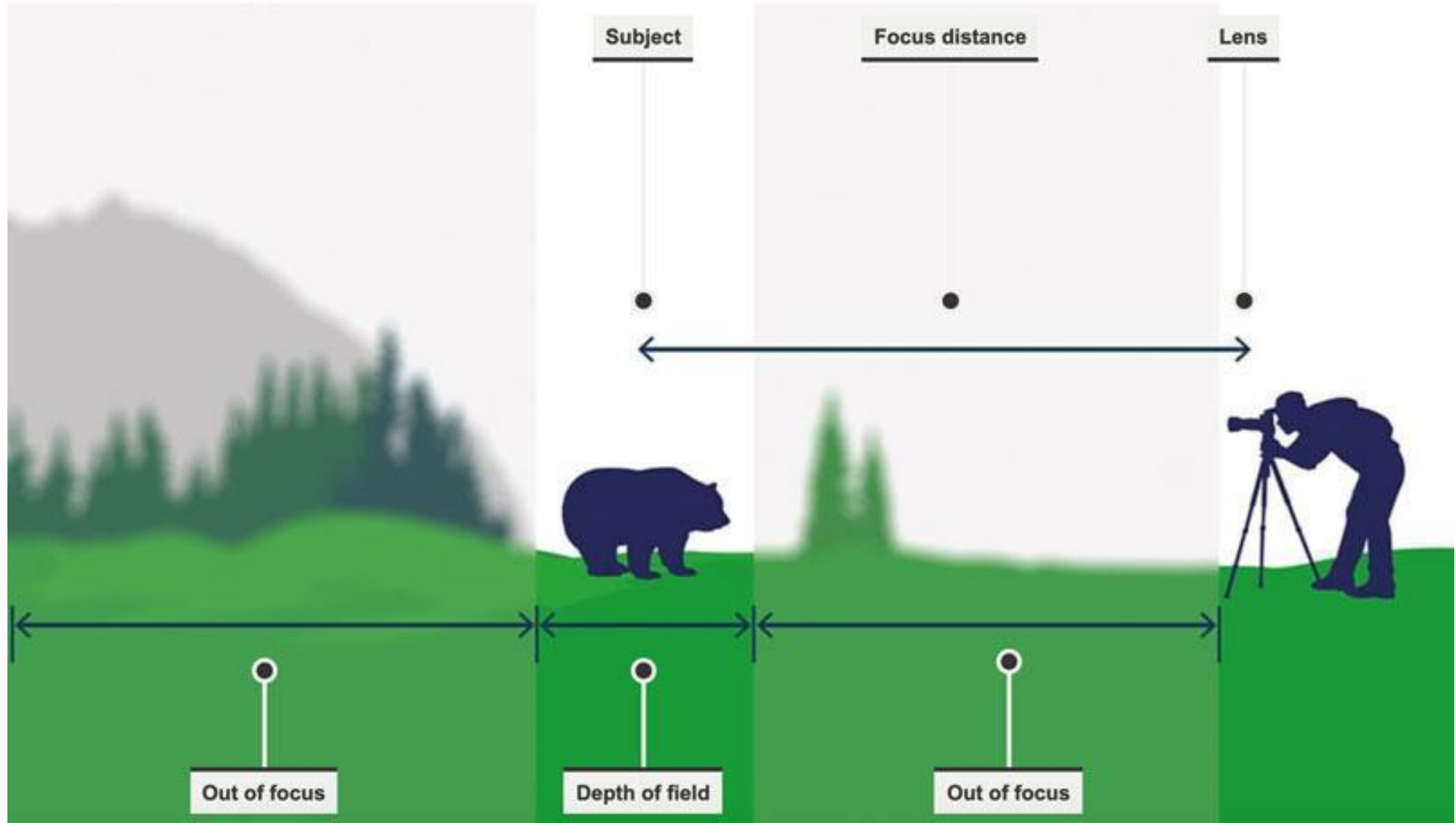
Διάμετρος Οπτικού Πεδίου =

Διάμετρος κυλίνδρου προσοφθάλμιου / Μεγέθυνση αντικειμενικού

- Παρατηρείστε στο μικροσκόπιο την αντικειμενοφόρο πλάκα που φέρει millimétré χαρτί. Πόσα τετράγωνα βλέπετε όταν παρατηρείτε με τον αντικειμενικό φακό X4, X10, X20, X40, X100;
- Υπολογίστε τη διάμετρο του οπτικού πεδίου των φακών του μικροσκοπίου σας και συμπληρώστε τη **στήλη 5** του **ΠΙΝΑΚΑ 1**. Η διάμετρος κυλίνδρου αναφέρεται εξωτερικά του φακού.

1	2	3	4	5	6	7	8
Μεγέθυνση Προσοφθάλμιου φακού WF Field No. 18 Me	Μεγέθυνση Αχρωματικού Αντικειμενικού φακού Mo	Μεγέθυνση μικροσκοπίου M	Αριθμητικό Άνοιγμα NA	Διάμετρος Οπτικού Πεδίου RV mm	Βάθος Πεδίου DF μm	Διακριτικό Όριο dmin μm	Απόσταση Εργασίας WD mm
10	4		0.10	4,5		3.36	20.0
	10		0.25	1,8		1.34	05.6
	20		0.40	0,9		0.84	2.23
	40		0.65	0,45		0.52	0.60
	100		1.30	0,18		0.26	0.14

Τι ονομάζεται Βάθος Πεδίου;





Δραστηριότητα 5: Βάθος πεδίου και Απόσταση Εργασίας

Βάθος Πεδίου (DF): ονομάζεται η διαμήκης απόσταση στο πεδίο του δείγματος εντός της οποίας οι λεπτομέρειες του αντικειμένου απεικονίζονται με ένα αποδεκτό βαθμό εστίασης και δίδεται από την εξίσωση:

$$\text{Βάθος Πεδίου} = n \cdot 0,61\lambda \cdot NA^2 + 1000 \cdot n / 7 \cdot M \cdot NA$$

Δείκτης διάθλασης αέρα ≈ 1 και κεδρέλαιου $\approx 1,5$ (ίδιος με του φακού).

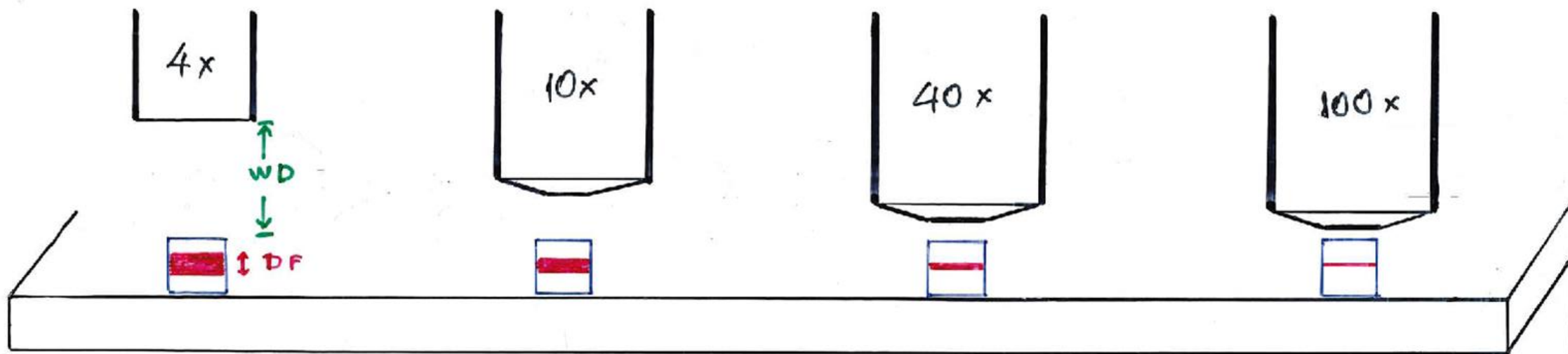
Υπολογίστε το βάθος πεδίου των φακών του μικροσκοπίου σας και συμπληρώστε τη **στήλη 6**

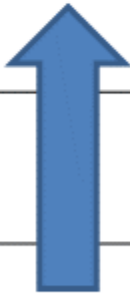


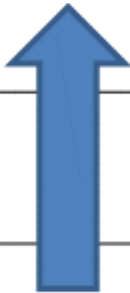


Απόσταση Εργασίας φακού/μικροσκοπίου ονομάζεται η απόσταση ή ο ελεύθερος χώρος μεταξύ του μετώπου του αντικειμενικού φακού και της επάνω επιφάνειας της καλυπτρίδας, στην θέση οξείας εστίασης.

Παρατηρήστε πως μεταβάλλεται η απόσταση εργασίας με τους διαφορετικούς αντικειμενικούς φακούς. Πως σχετίζεται η απόσταση εργασίας με τη μεγέθυνση;

Μελετώντας τον **ΠΙΝΑΚΑ 1** σκεφτείτε τους λόγους που ξεκινάμε την παρατήρηση με τον X4.

ΒΑΘΟΣ ΠΕΔΙΟΥ / ΑΠΟΣΤΑΣΗ ΕΡΓΑΣΙΑΣ



Objective Lenses	Field of View	Resolution	Focus Knob	Depth of Focus
4X	Greatest	Least	Course	Greatest
10X			Fine	
40X			Fine	
100X	Least	Greatest	Fine	Least

ΠΙΝΑΚΑΣ 1: Τεχνικά Χαρακτηριστικά (specifications) του Οπτικού Μικροσκοπίου, Σελ, 7 φύλλο εργασίας

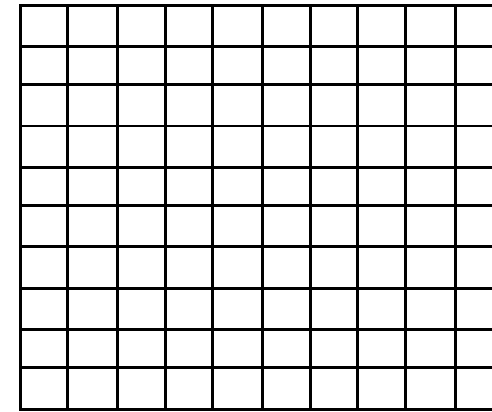
1	2	3	4	5	6	7	8
Μεγέθυνση Προσοφθάλμιου φακού WF Field No, 18 Me	Μεγέθυνση Αχρωματικού Αντικειμενικού φακού Mo	Μεγέθυνση μικροσκοπίου M	Αριθμητικό Άνοιγμα NA	Διάμετρος Οπτικού Πεδίου RV mm	Βάθος Πεδίου DF μm	Διακριτικό Όριο dmin μm	Απόσταση Εργασίας WD mm
10	4	40	0,10	4,5	0,036	3,355	20,0
	10	100	0,25	1,8	0,015	1,342	05,6
	20	200	0,40	0,9	0,009	0,838	2,23
	40	400	0,65	0,45	0,006	0,516	0,60
	100	1000	1,30	0,18	0,000	0,258	0,14

$$d_{\min} = 0,61\lambda/NA, \lambda=550\text{nm}$$

Δραστηριότητα 6: Διαβάθμιση τετράγωνου πλαισίου προσοφθάλμιου με τη βοήθεια μικρομετρικής κλίμακας



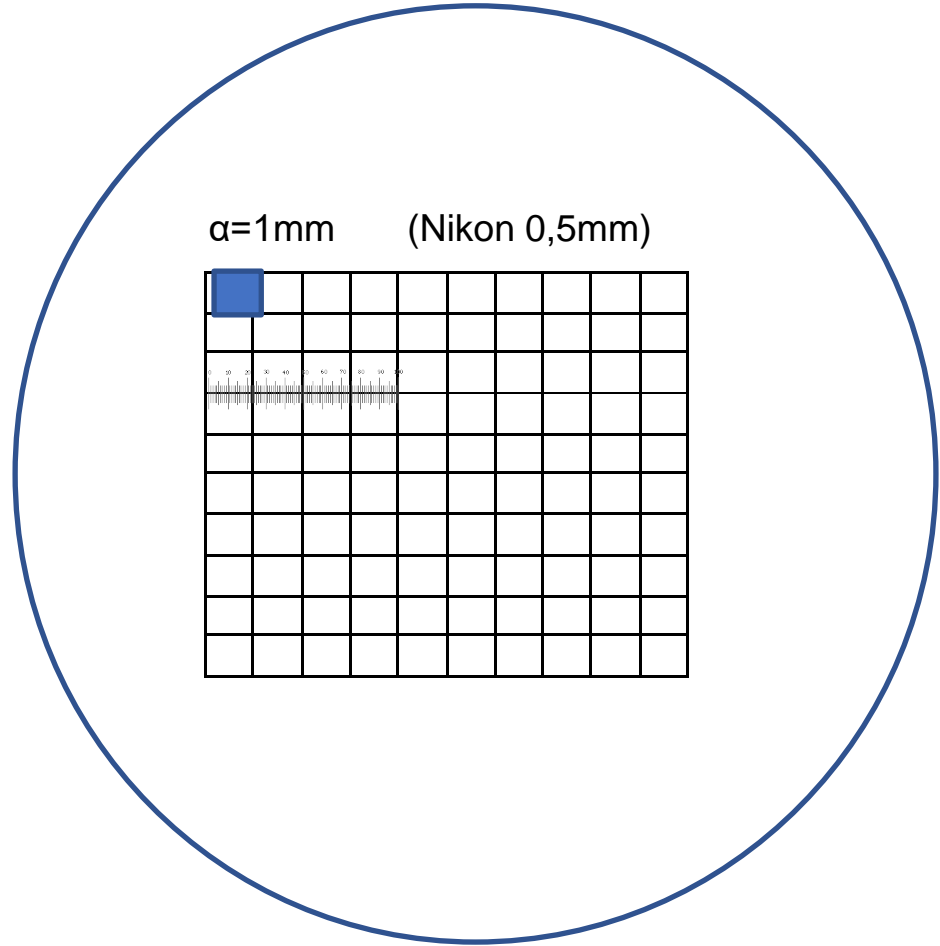
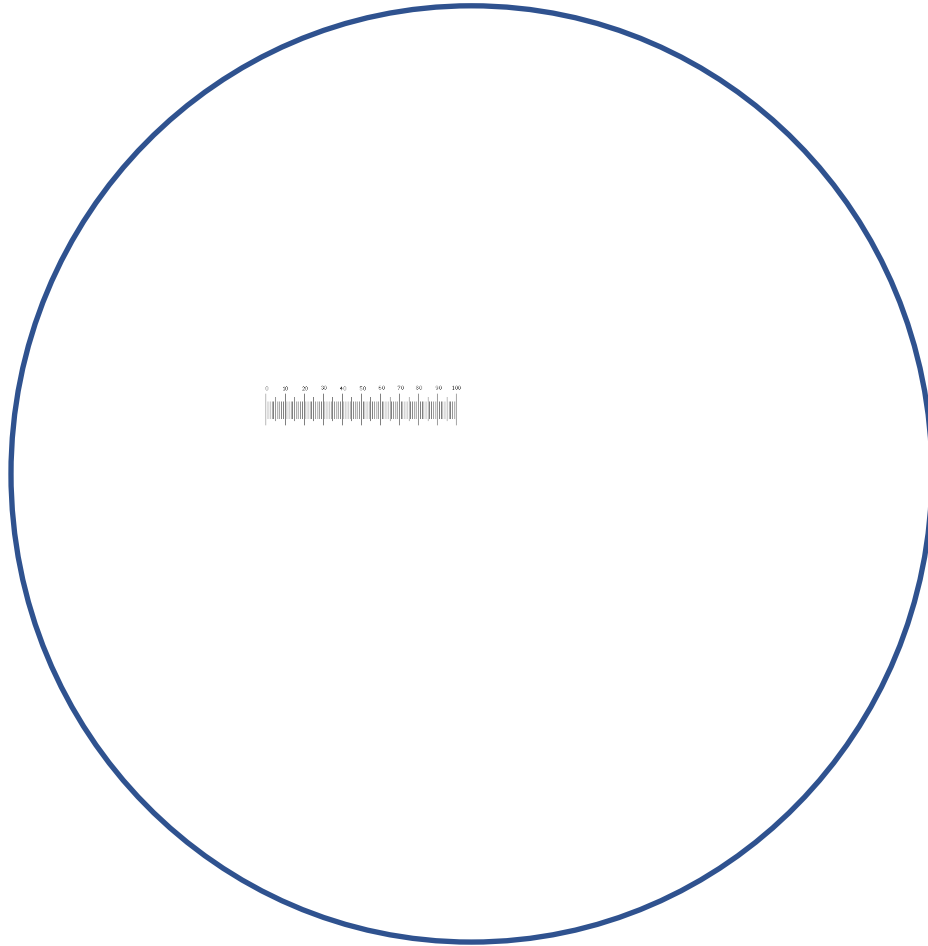
Η πλευρά α του τετραγωνιδίου θα χρησιμοποιηθεί ως κλίμακα για μετρήσεις στο μικροσκόπιο. Πρώτα όμως θα πρέπει να διαβαθμιστεί στον κάθε αντικειμενικό φακό με τη βοήθεια της *μικρομετρικής κλίμακας* 1 mm / 0.01 mm.



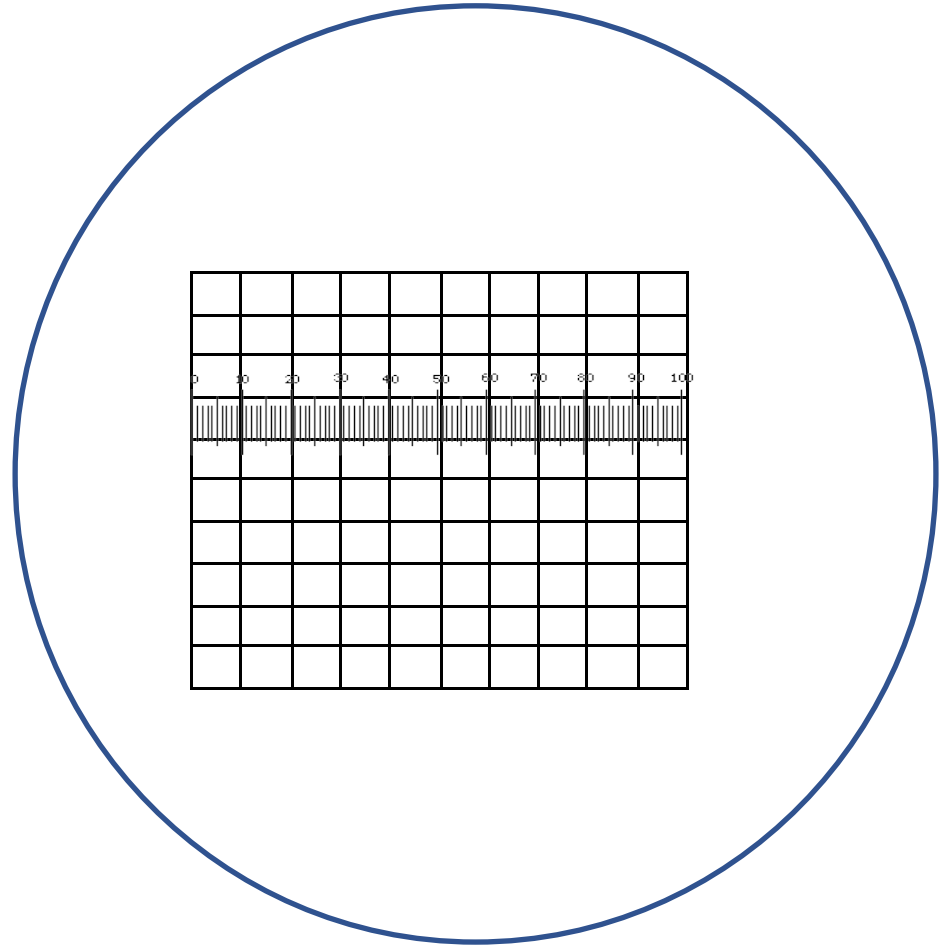
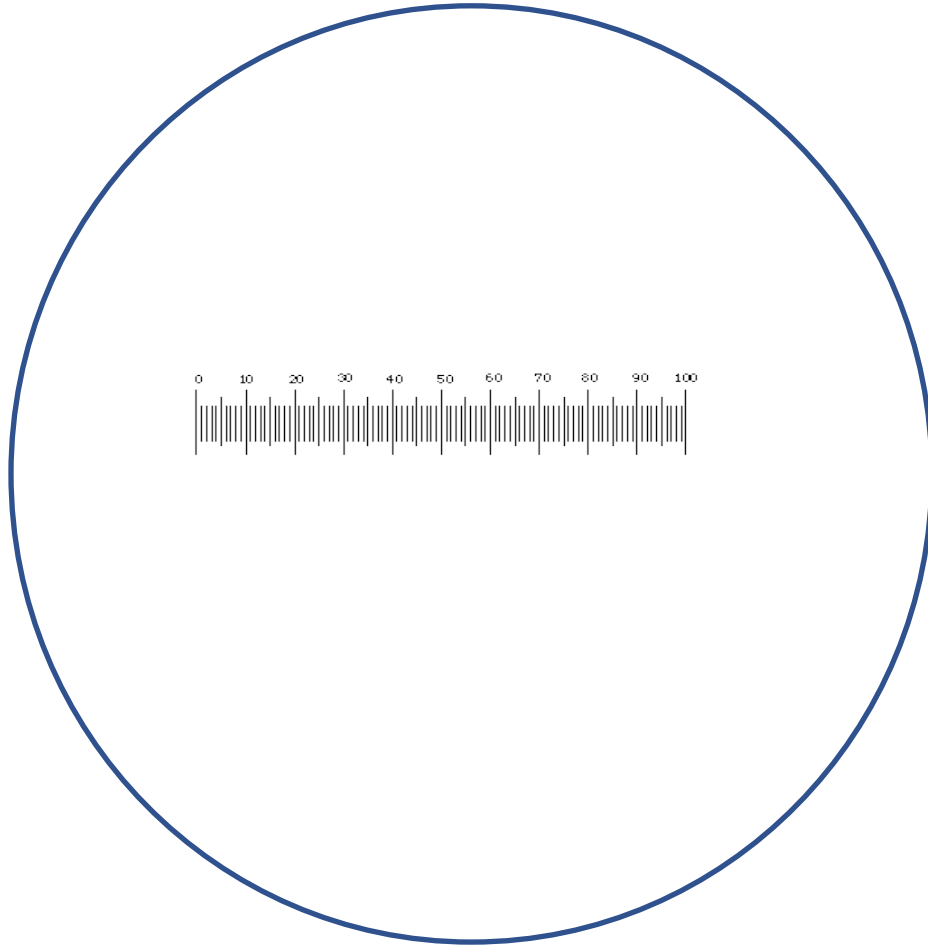
Το προσοφθάλμιο πλαίσιο είναι ένα τετράγωνο πλευράς 10 mm ή 5 mm (Olympus και Nikon, αντίστοιχα).

Υποδιαιρείται σε εκατό (100) μικρότερα τετράγωνα (τετραγωνίδια) πλευράς $\alpha = 1$ mm ή $\alpha = 0.5$ mm (Olympus και Nikon, αντίστοιχα).

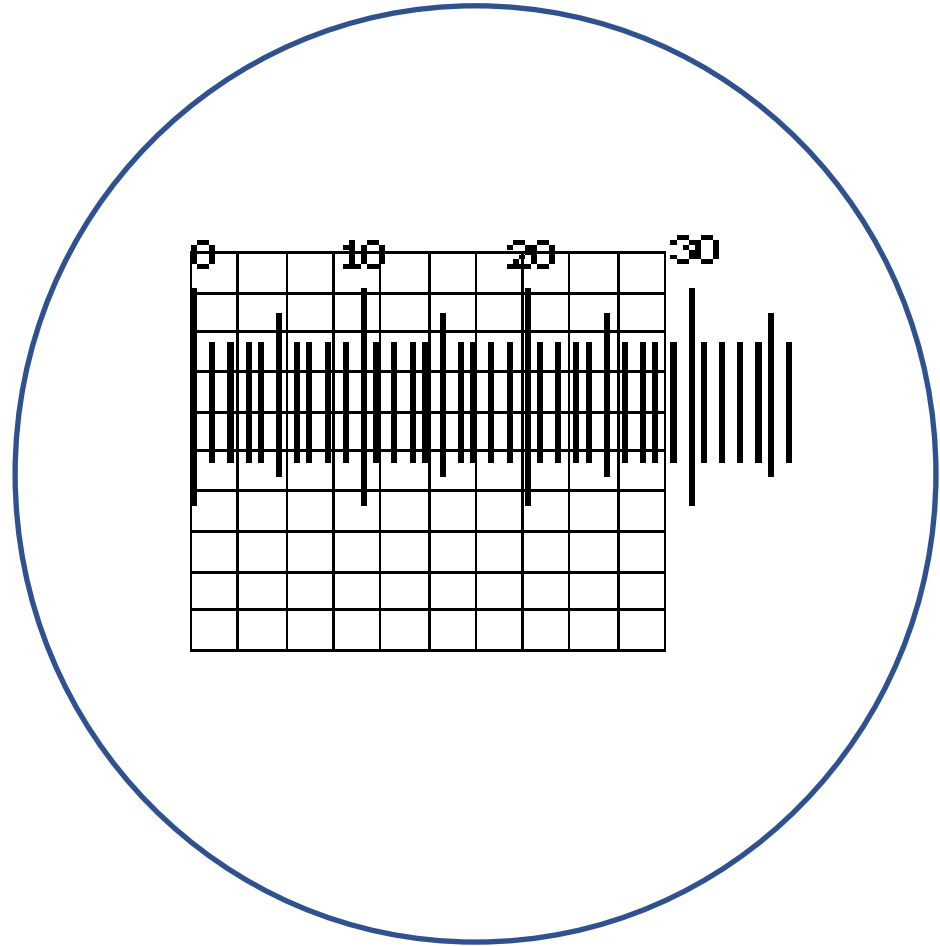
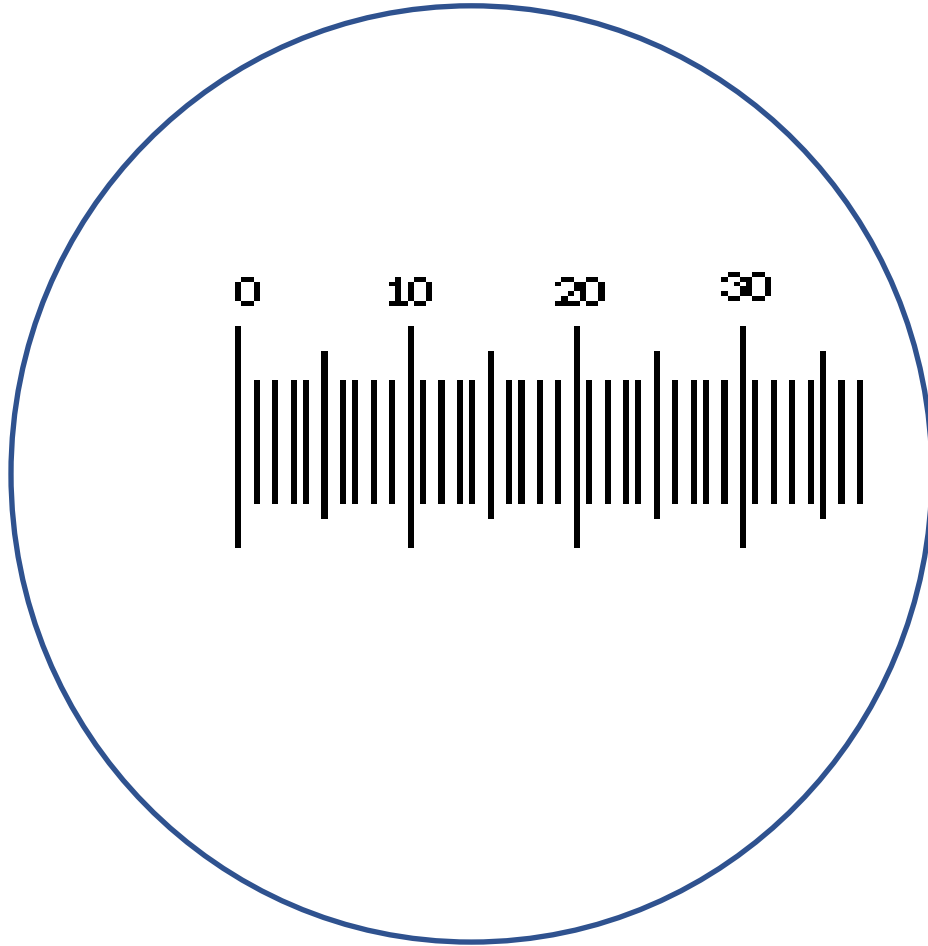
Παρατηρήστε σε όλους τους αντικειμενικούς φακούς πόσες γραμμές της μικρομετρικής κλίμακας αντιστοιχούν σε ένα τετραγωνίδιο α και συμπληρώστε τον **ΠΙΝΑΚΑ 2**.



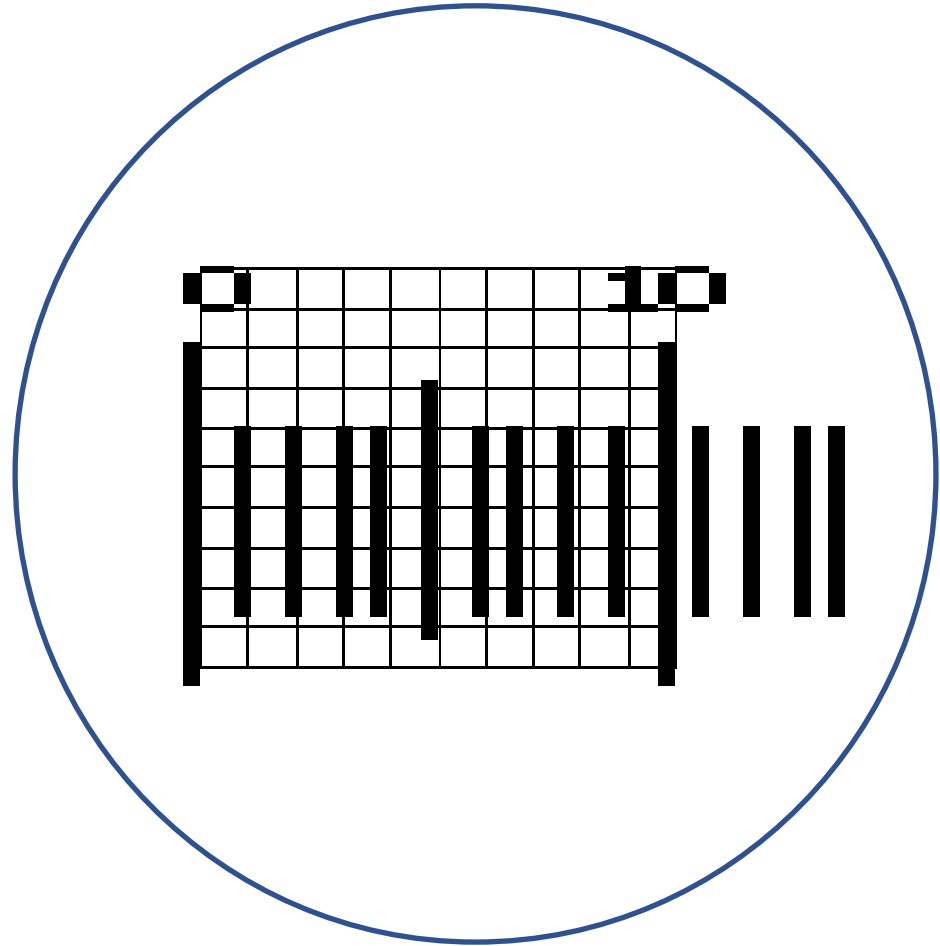
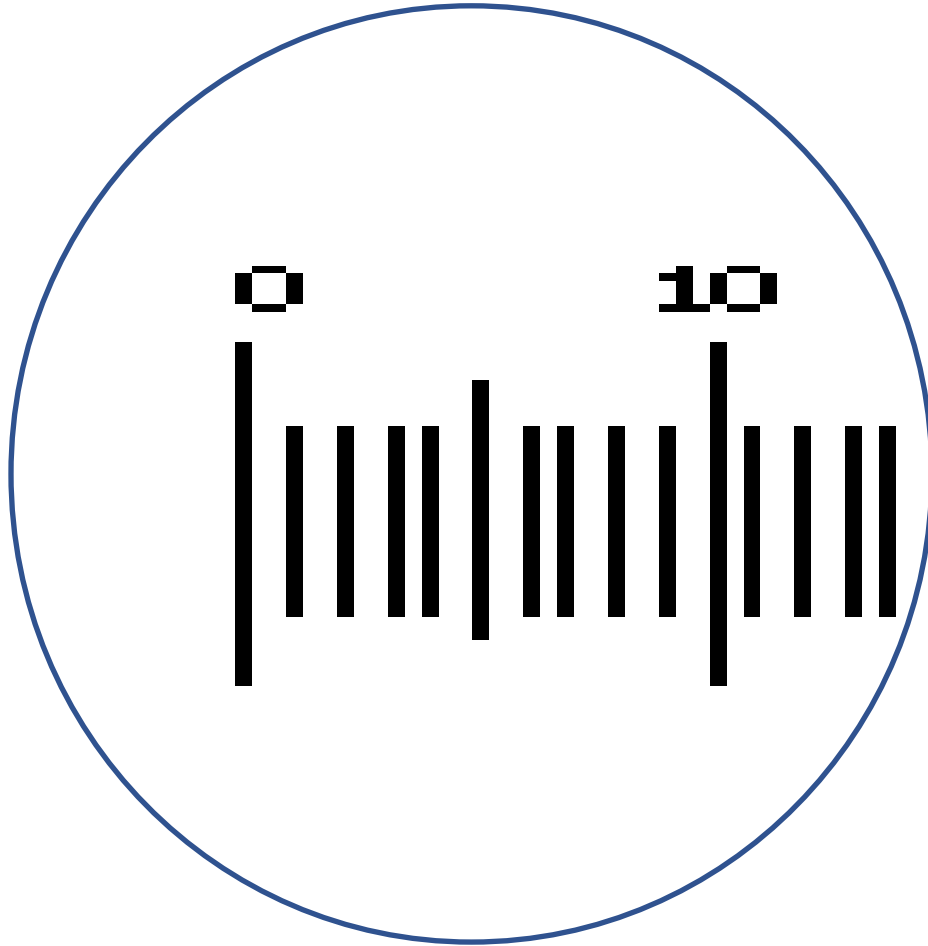
X40 --- 25 ή 12,5 γραμμές/τετραγωνίδιο



X100 --- 10 ή 5 γραμμές/τετραγωνίδιο



X400 --- 2,5 ή 1,25 γραμμές/τερταγωνίδιο



X1000 --- 1 ή 0,5 γραμμή/τεταγωνίδιο

ΠΙΝΑΚΑΣ 2. Πίνακας τιμών της πλευράς α του τετραγωνιδίου

Αντικειμενικοί φακοί	Μήκος πλευράς α		
	Γραμμές μικρομετρικής κλίμακας	Olympus	Nikon
4X	$\alpha = 25 \text{ ή } 12,5 * 0,01 \text{ mm}$	$\alpha = 250 \mu\text{m}$	$\alpha = 125 \mu\text{m}$
10X	$\alpha = 10 \text{ ή } 5 * 0,01 \text{ mm}$	$\alpha = \mu\text{m}$	$\alpha = \mu\text{m}$
20X	$\alpha = 5 \text{ ή } 2,5 * 0,01 \text{ mm}$	$\alpha = \mu\text{m}$	$\alpha = \mu\text{m}$
40X	$\alpha = 2,5 \text{ ή } 1,25 * 0,01 \text{ mm}$	$\alpha = \mu\text{m}$	$\alpha = \mu\text{m}$
100X	$\alpha = 1 \text{ ή } 0,5 * 0,01 \text{ mm}$	$\alpha = 10 \mu\text{m}$	$\alpha = 5 \mu\text{m}$

ΠΙΝΑΚΑΣ 2. Πίνακας τιμών της πλευράς α του τετραγωνιδίου

Αντικειμενικοί φακοί	Μήκος πλευράς α		
	Γραμμές μικρομετρικής κλίμακας	Olympus	Nikon
4X	$\alpha = 25 * 0,01 \text{ mm}$	$\alpha = 250 \mu\text{m}$	$\alpha = 125 \mu\text{m}$
10X	$\alpha = 10 * 0,01 \text{ mm}$	$\alpha = 100 \mu\text{m}$	$\alpha = 50 \mu\text{m}$
20X	$\alpha = 5 * 0,01 \text{ mm}$	$\alpha = 50 \mu\text{m}$	$\alpha = 25 \mu\text{m}$
40X	$\alpha = 2,5 * 0,01 \text{ mm}$	$\alpha = 25 \mu\text{m}$	$\alpha = 12,5 \mu\text{m}$
100X	$\alpha = 1 * 0,01 \text{ mm}$	$\alpha = 10 \mu\text{m}$	$\alpha = 5 \mu\text{m}$

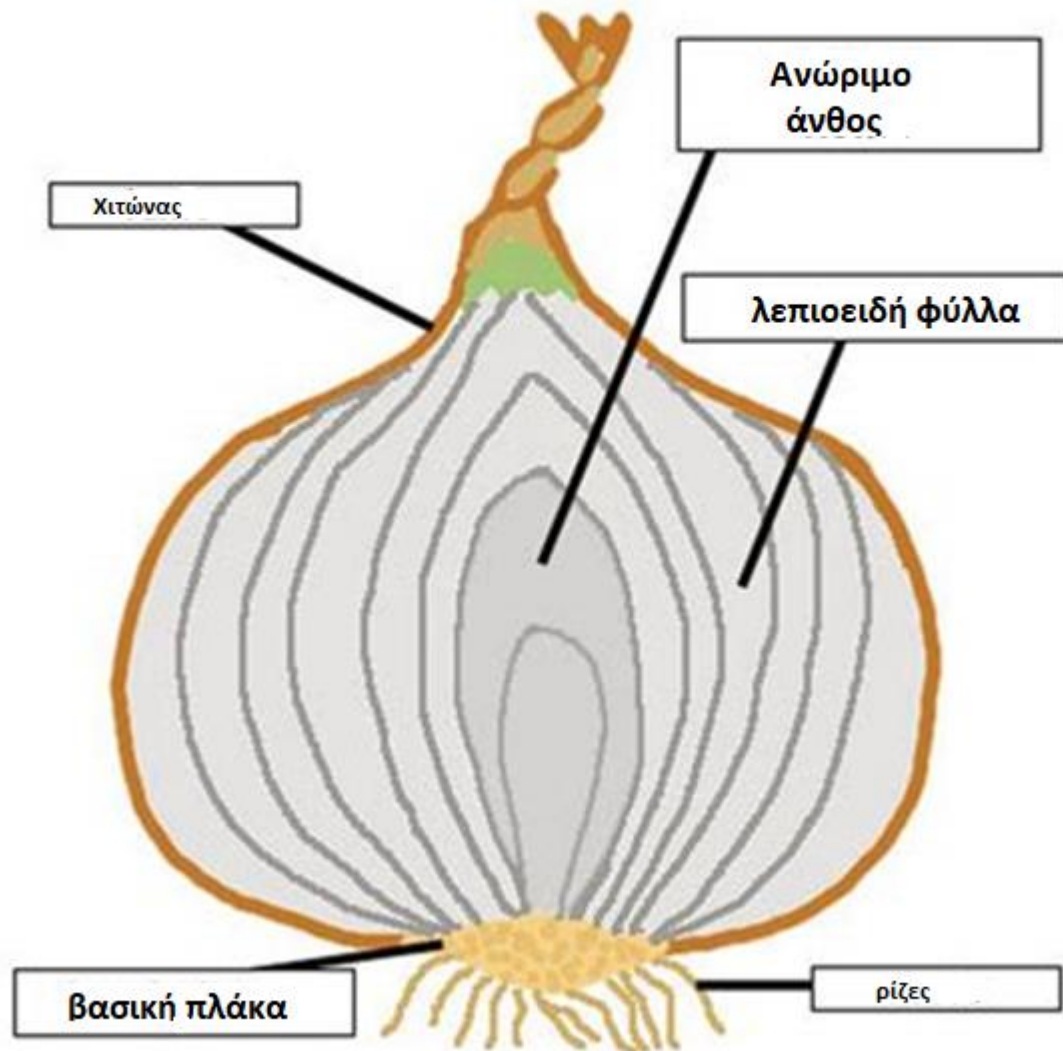
Δραστηριότητα 7: Μέτρηση Επιφάνειας κυττάρων με Προσοφθάλμια Κλίμακα

Για την μέτρηση της επιφάνειας κυττάρων θα χρησιμοποιηθούν κύτταρα κρεμμυδιού

Σημείωση: Οι μετρήσεις των διαστάσεων των κυττάρων μπορούν να γίνουν κατά προσέγγιση και με την βοήθεια της ήδη υπολογισθείσας [Πίνακας 1] Διαμέτρου Οπτικού Πεδίου RV.

- Αποσπούμε τμήμα της **επιδερμίδας** χιτώνα βολβού **κρεμμυδιού**.
- Μεταφέρουμε την τομή σε μία σταγόνα νερού, τοποθετούμε την καλυπτρίδα
- Παρατηρούμε και σχεδιάζουμε κύτταρο της επιδερμίδας χιτώνα βολβού κρεμμυδιού.
- Σημειώνουμε τις διαστάσεις του μήκους και του πλάτους του κυττάρου στους άξονες x και y με τη βοήθεια της πλευράς α του τετραγωνιδίου του πλαισίου προσοφθάλμιου και τις τιμές του **ΠΙΝΑΚΑ 2** για κάθε μεγέθυνση.
- Τέλος, υπολογίζουμε την επιφάνεια-εμβαδόν της πλευράς του κυττάρου ($E=x*y \mu m^2$).
- Συγκρίνεται το εμβαδόν σε διάφορες μεγεθύνσεις.

Βολβός

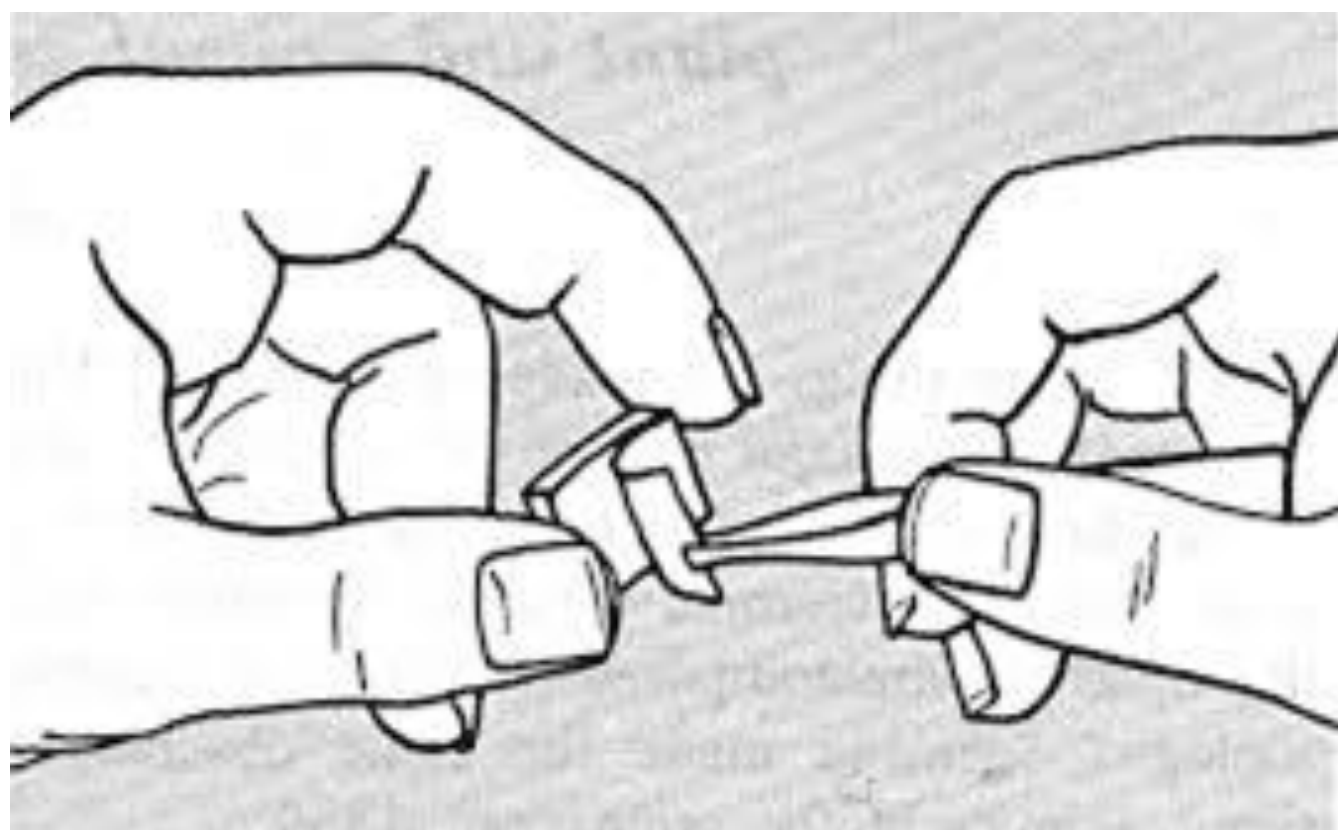




©Sheila Finkelstein

Τοποθετούμε μια σταγόνα νερού
στην αντικειμενοφόρο πλάκα

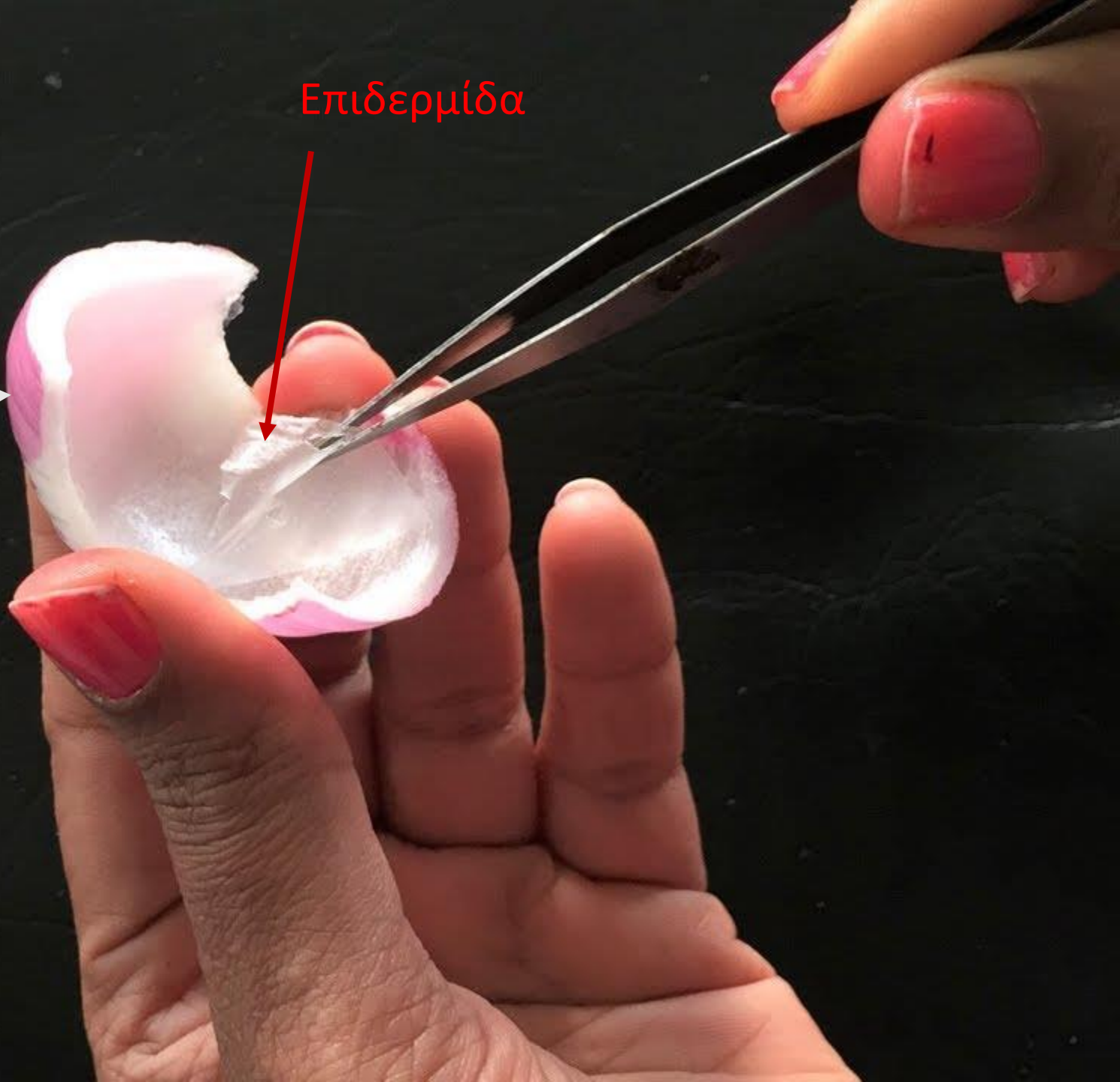




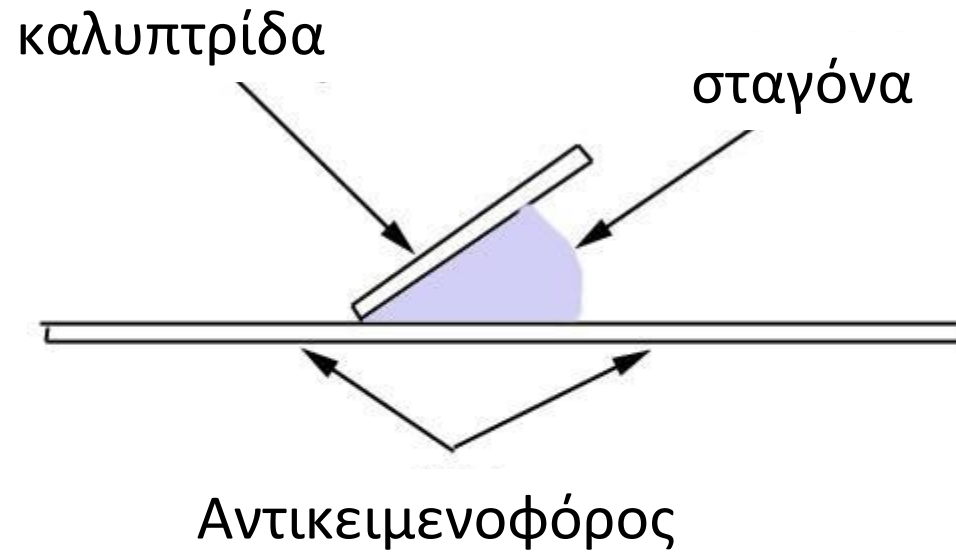
εφυμενίδα

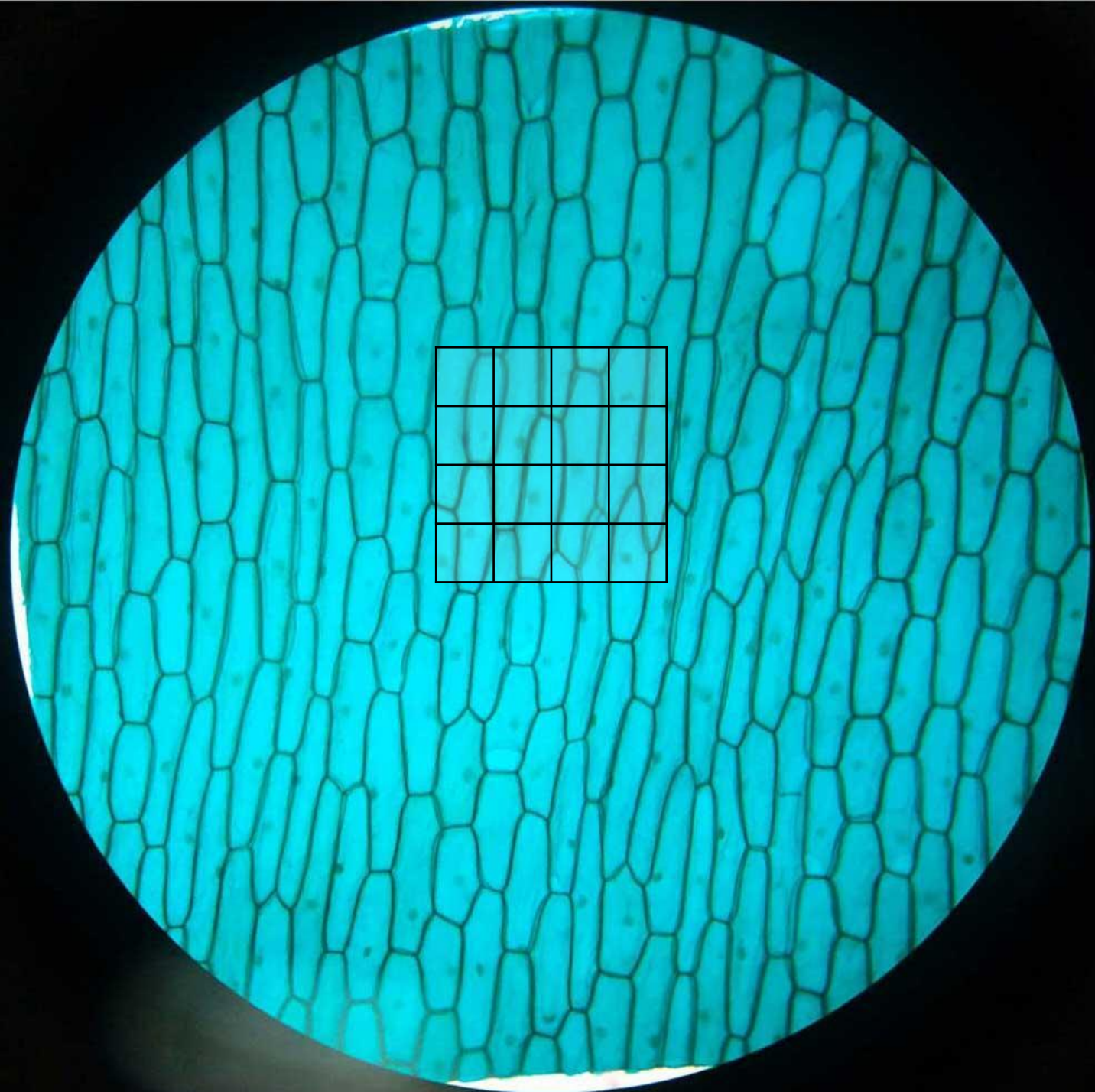


Επιδερμίδα




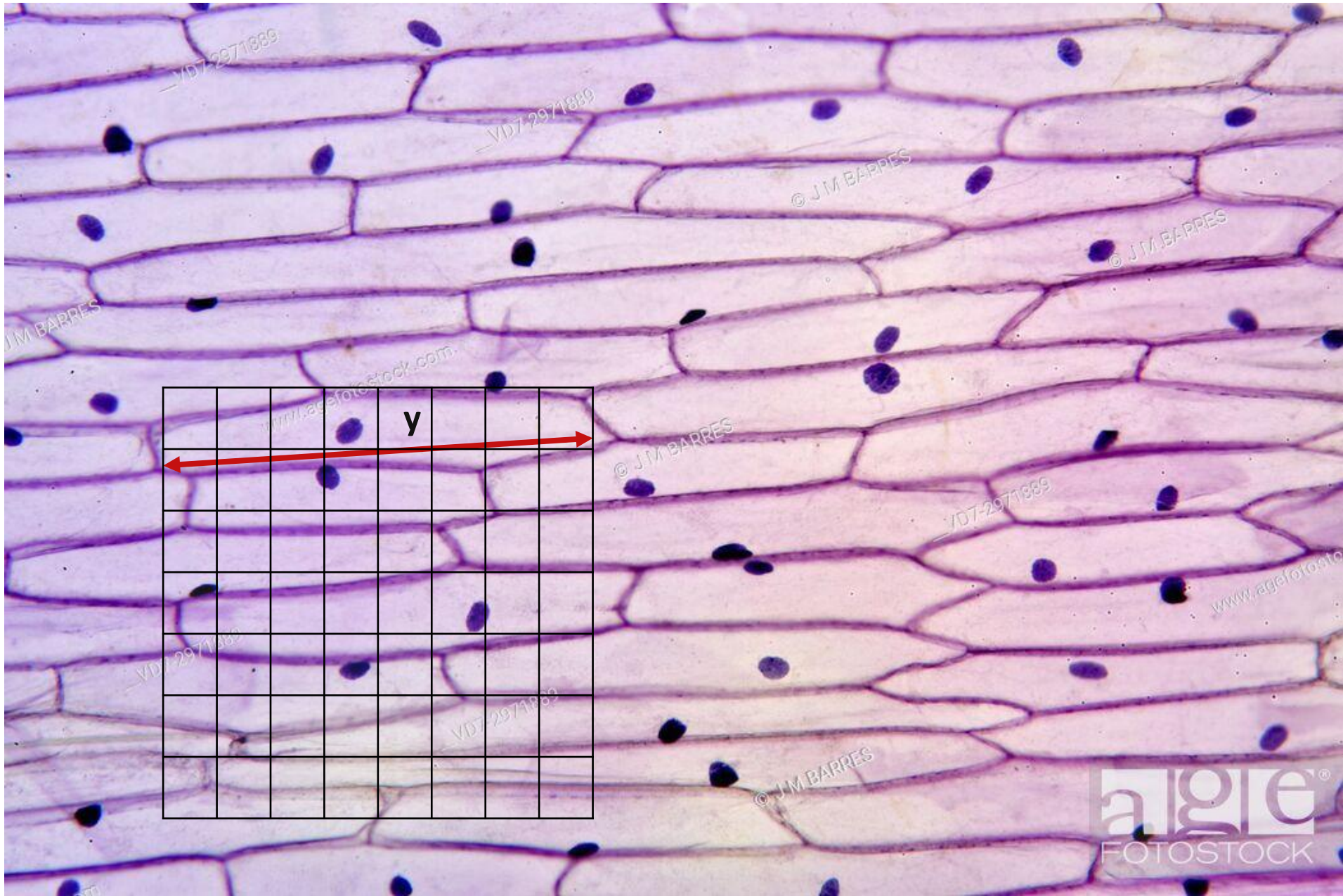
Τοποθετούμε το τμήμα της επιδερμίδας στη σταγόνα νερού και την καλυπτρίδα





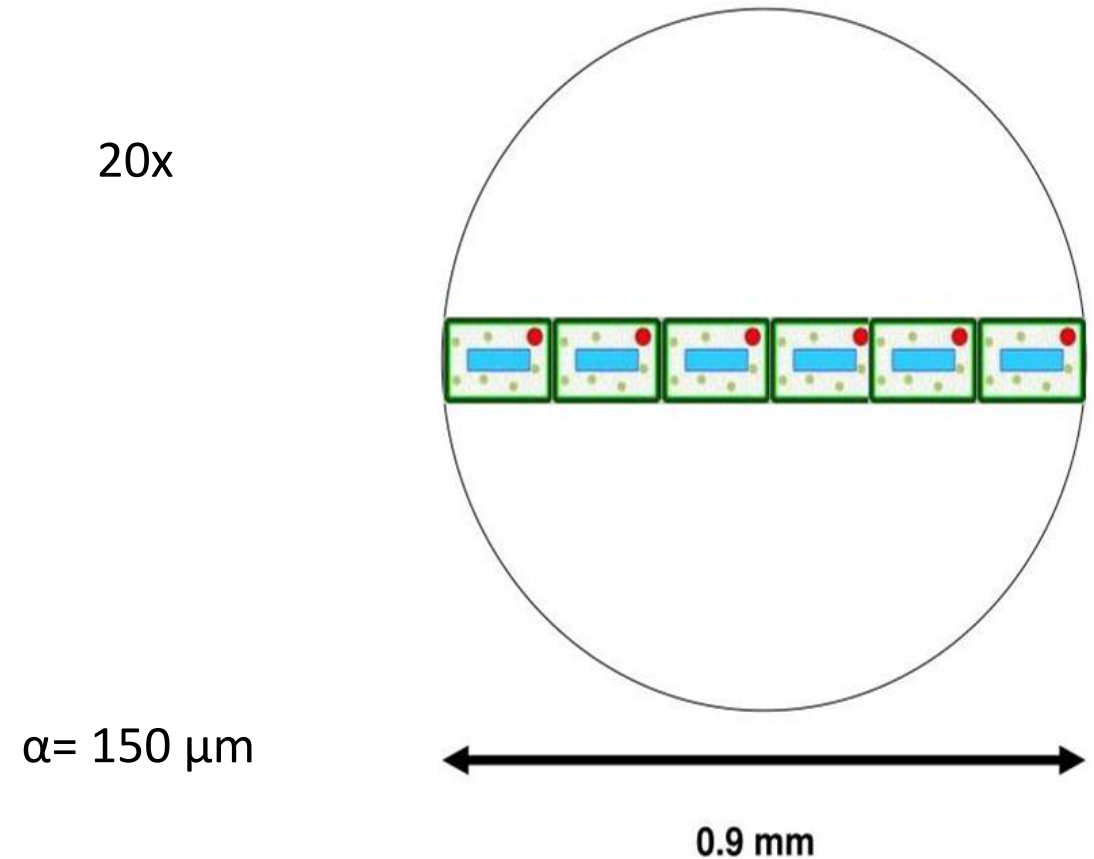
20x

x 



Υπολογισμός διαστάσεων κυττάρου με τη χρήση του οπτικού πεδίου

$$\text{Μέγεθος κυττάρου} = \frac{\text{Διάμετρος Οπτικού πεδίου}}{\text{αριθμός κυτταρων που χωρανε στη διαμετρο}}$$



Δραστηριότητα 8: Μέτρηση όγκου κυττάρων με Προσοφθάλμια Κλίμακα

Για την μέτρηση του όγκου κυττάρων υπολογίζονται οι διαστάσεις στους άξονες x , y , z . Για να υπολογιστεί το ύψος-πάχος του κυττάρου (άξονας z) απαιτείται εγκάρσια τομή του χιτώνα βολβού κρεμμυδιού.

- Αποσπούμε τμήμα του χιτώνα βολβού κρεμμυδιού.
- Κόβουμε λεπτή εγκάρσια τομή με το ξυράφι.
- Μεταφέρουμε την τομή σε μία σταγόνα νερού.
- Παρατηρούμε την επιδερμίδα και υπολογίζουμε το ύψος-πάχος (z) των κυττάρων της με τη βοήθεια της πλευράς a του τετραγωνιδίου του πλαισίου προσοφθάλμιου και τις τιμές του **ΠΙΝΑΚΑ 2** για κάθε μεγέθυνση.
- Τέλος, υπολογίζουμε τον όγκο του κυττάρου ($V=x*y*z \mu m^3$)

Απαραίτητες τομές για τον προσδιορισμό του όγκου του φυτικού κυττάρου:

– Εφαπτομένη τομή, Tangential section/t.s.

ή

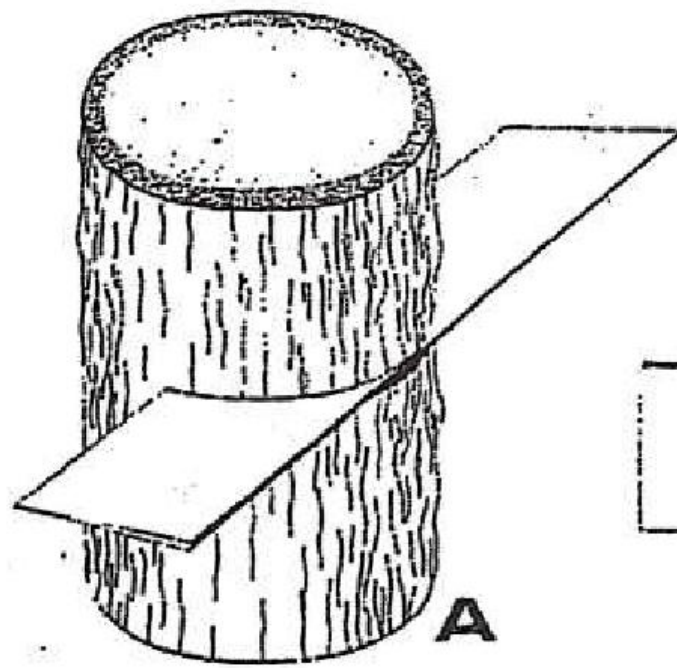
– Διαμήκης (κατά μήκος) τομή, Longitudinal section/l.s

και

– Εγκάρσια τομή, Cross section/c.s.

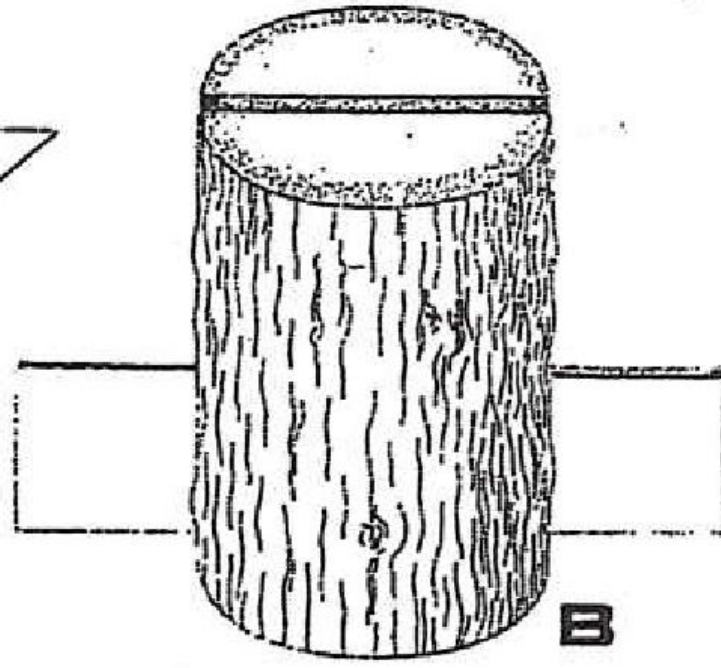


Εγκάρσια τομή



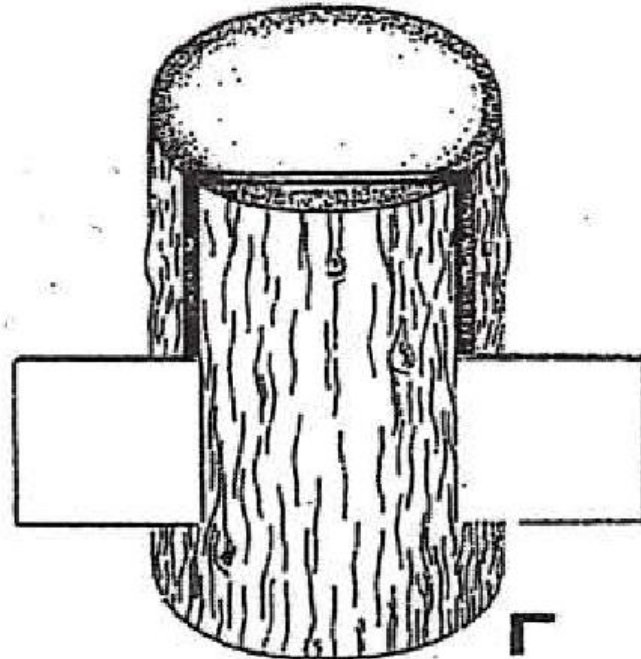
A

Ακτινική τομή



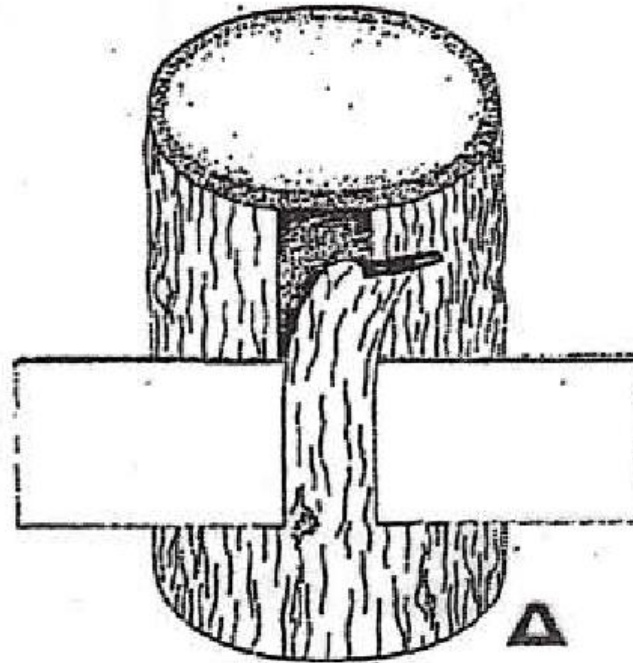
B

Διαμήκης (Κατά μήκος)
τομή



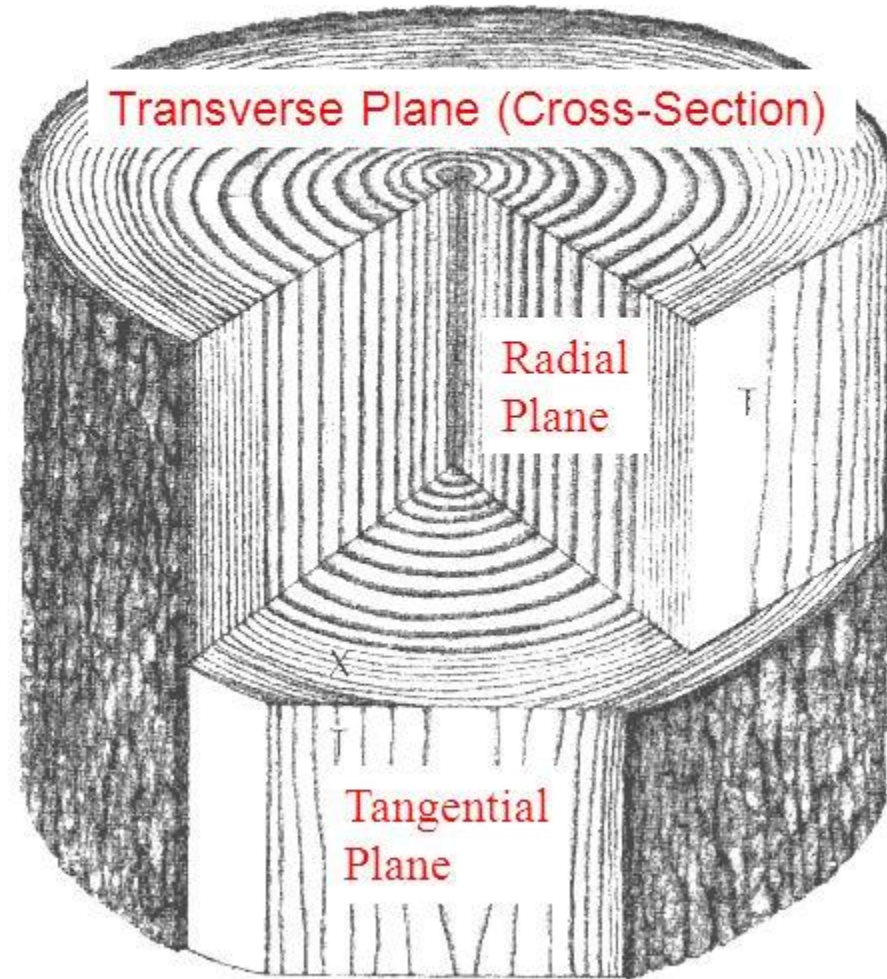
Γ

Κατ'εφαπτομένη τομή



Δ

Planes-of-View in Wood Samples





(α)



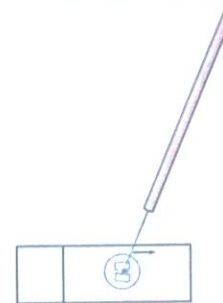
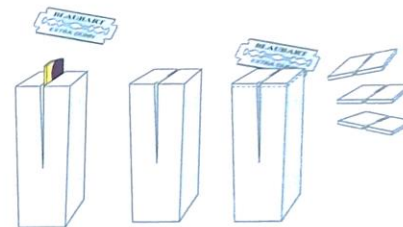
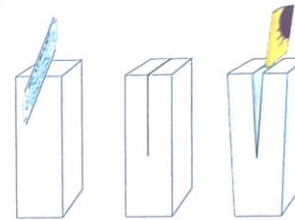
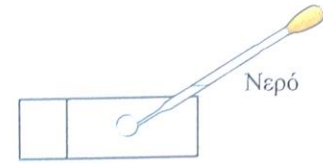
(β)



(γ)



(δ)

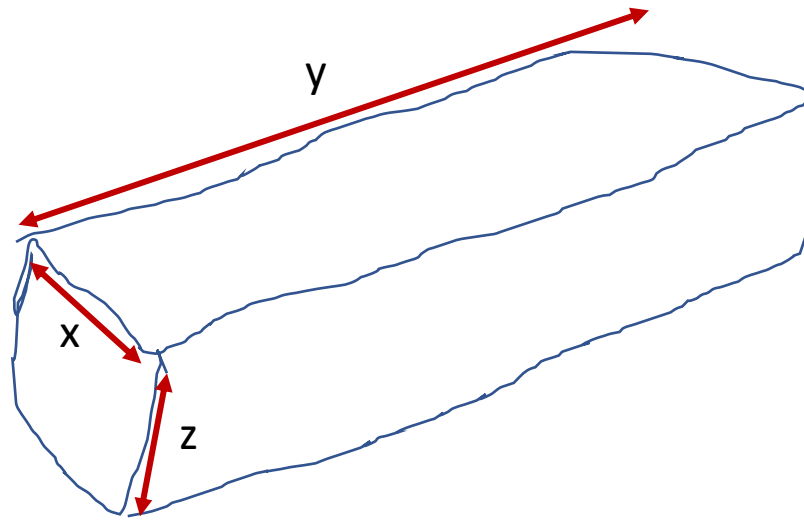


$$V = x * y * z = 50 \times 400 \times 48 = 960.000 \mu\text{m}^3$$

- Εφαπτομένη τομή, Tangential section/t.s.
- Διαμήκης τομή, Longitudinal section/l.s
- Εγκάρσια τομή, Cross section/c.s.

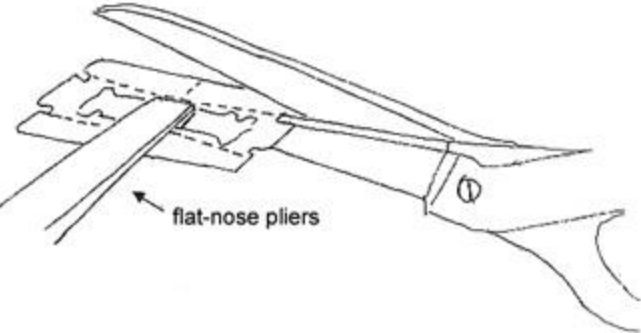
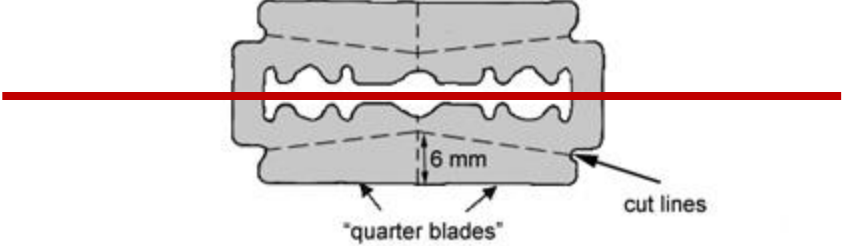


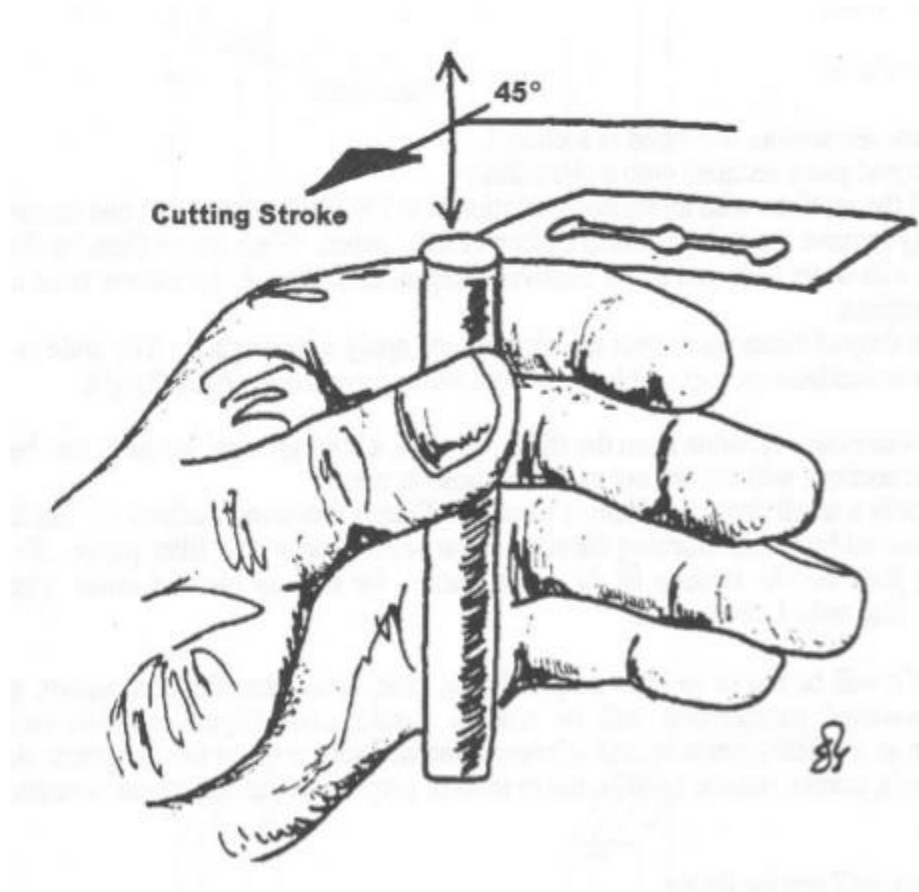
C.S.



l.s.





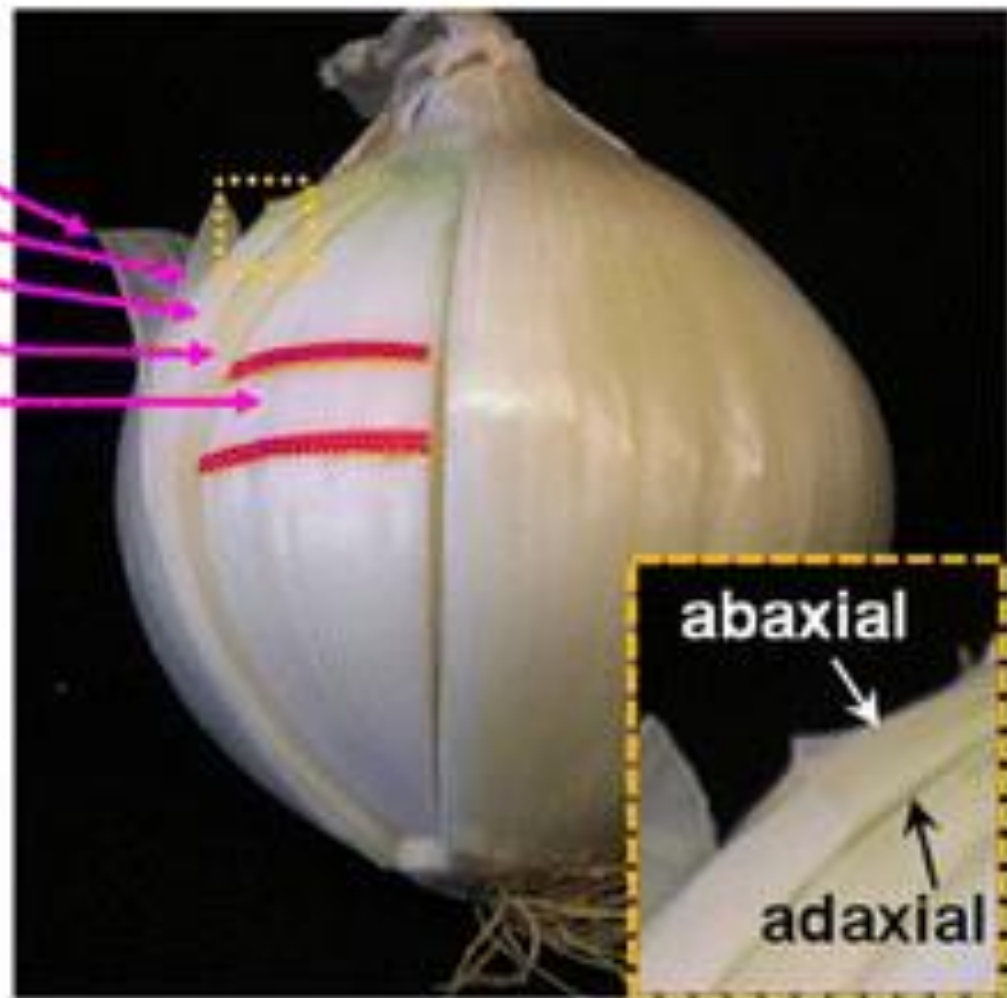


Αρχικά κάνουμε
Τομή καθαριότητας
την οποία δεν
χρησιμοποιούμε

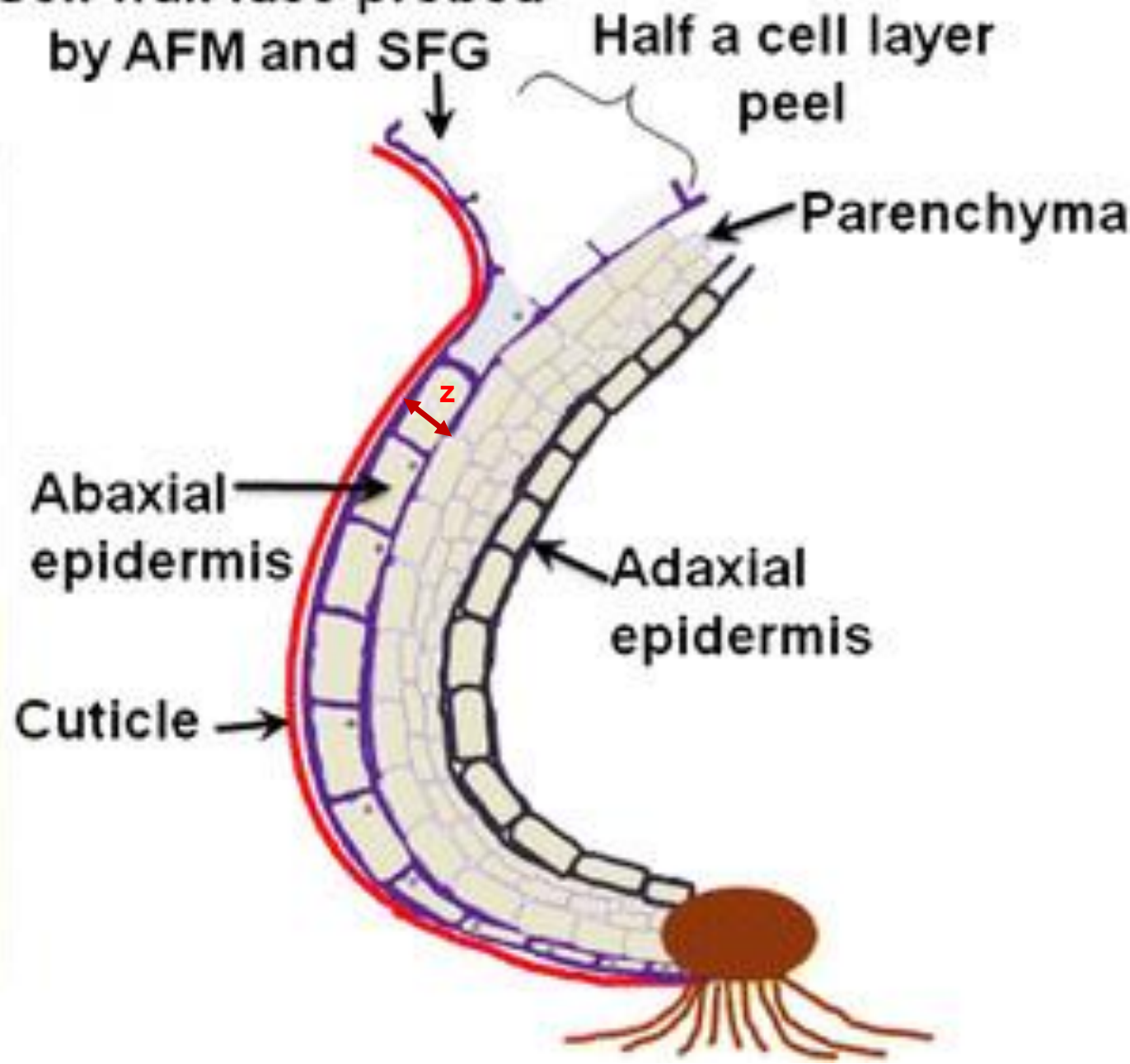
Figure 1. One method of holding a specimen for free hand sectioning;
Adapted from <http://www.ableweb.org/volumes/vol-19/9-yeung.pdf>



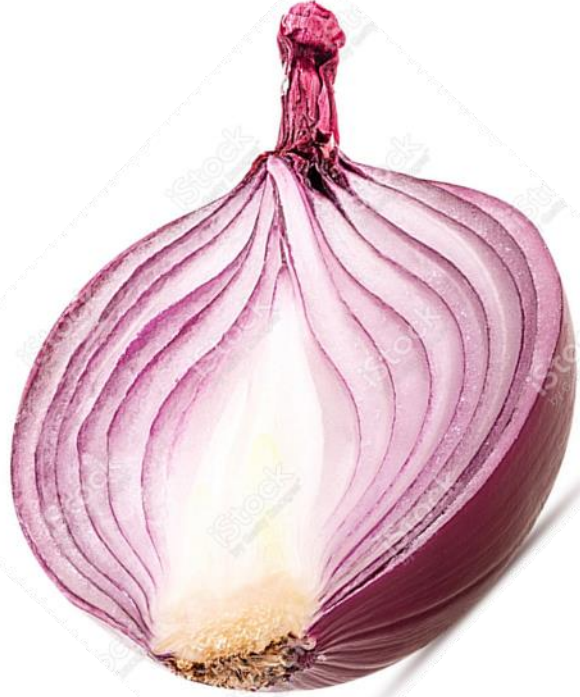
1st
2nd
3rd
4th
5th



Cell wall face probed
by AFM and SFG

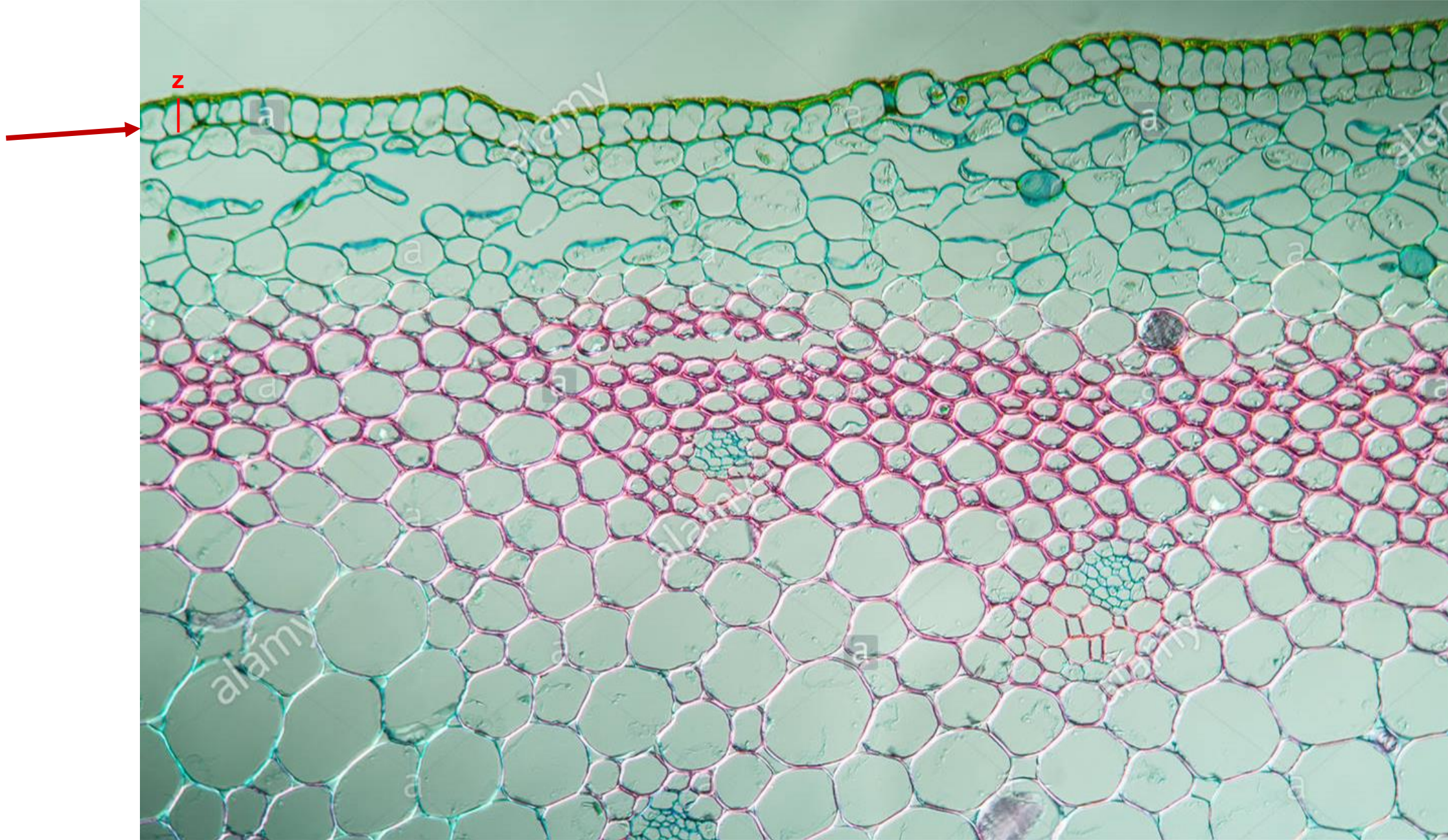


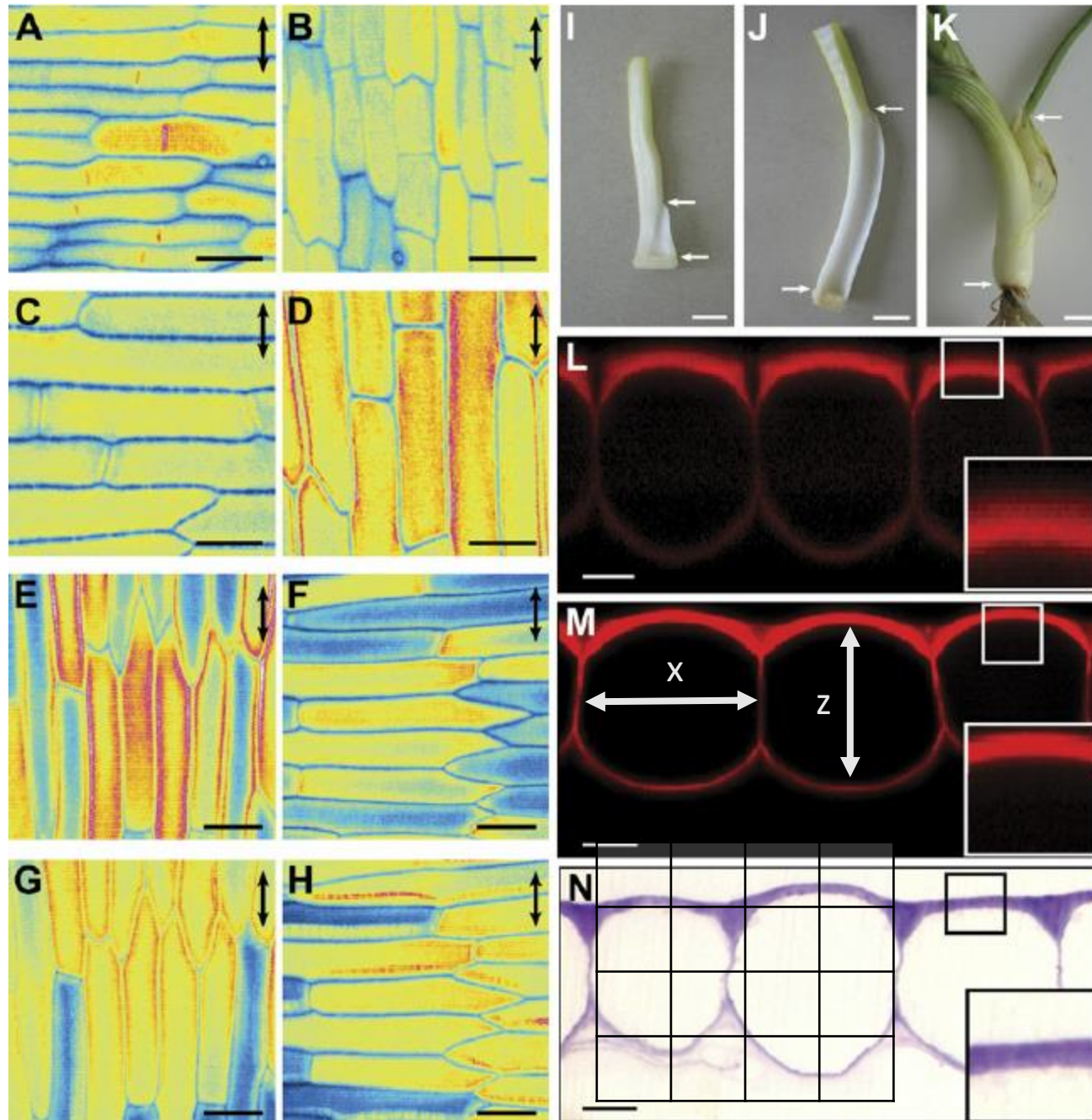
A



B





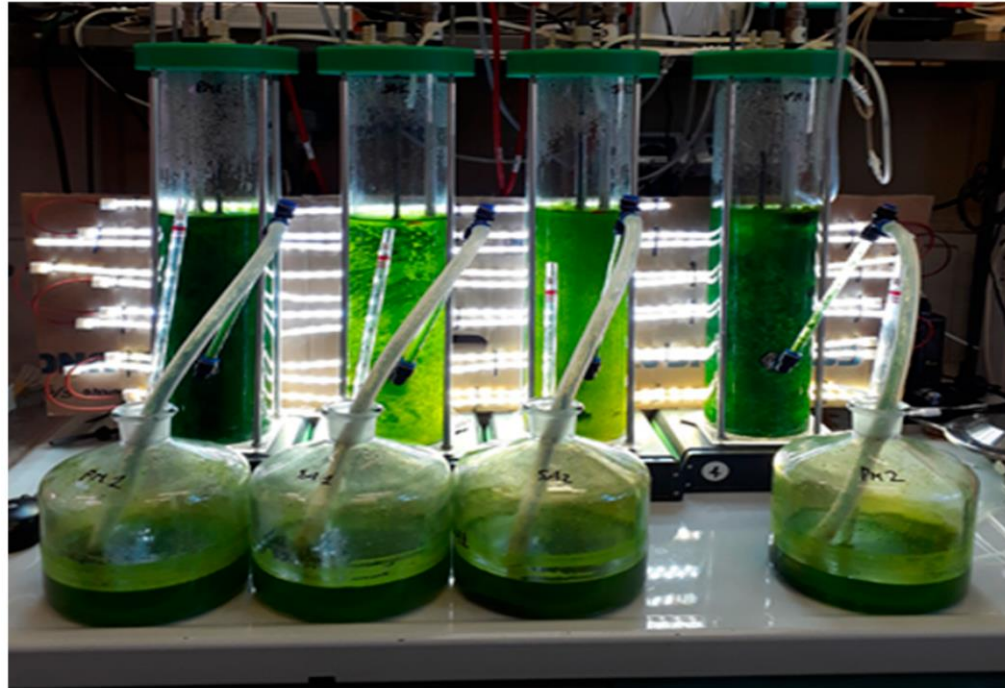


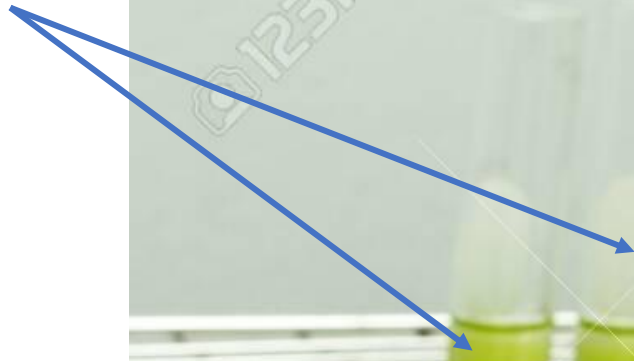
$x = z = 48 \mu\text{m}$

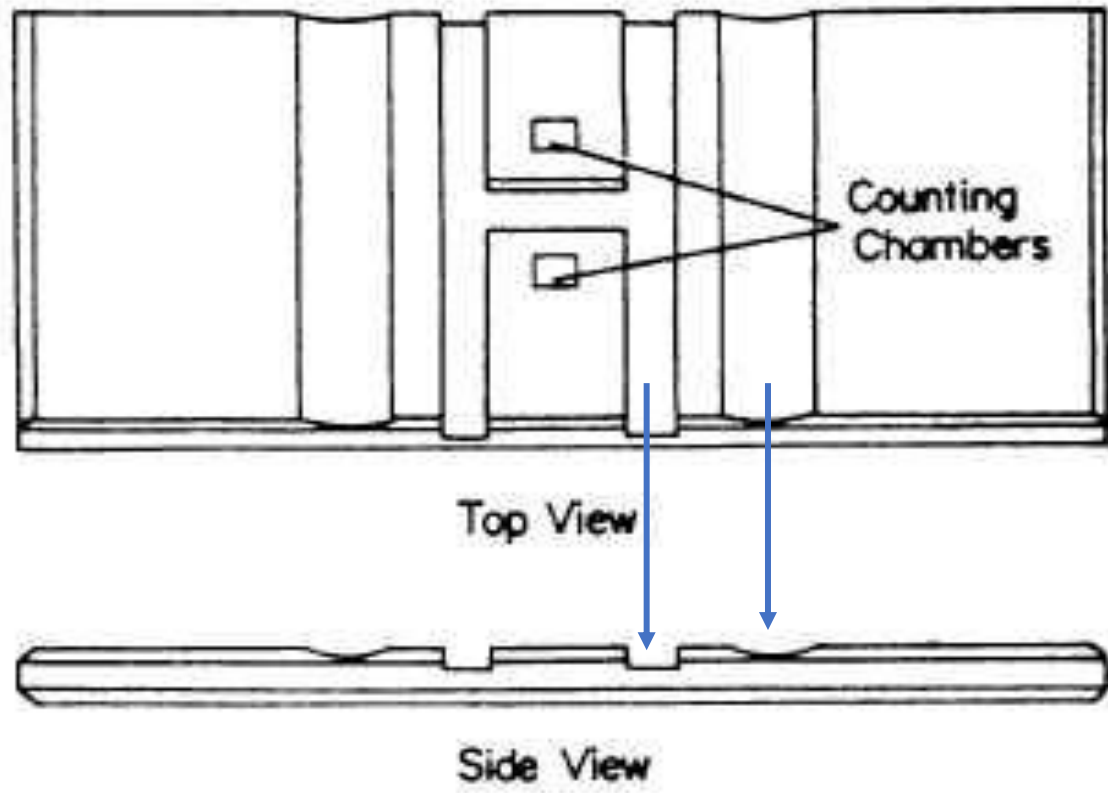
40x

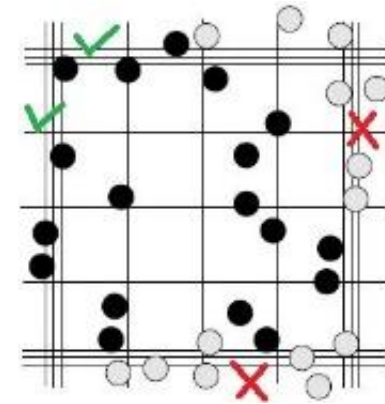
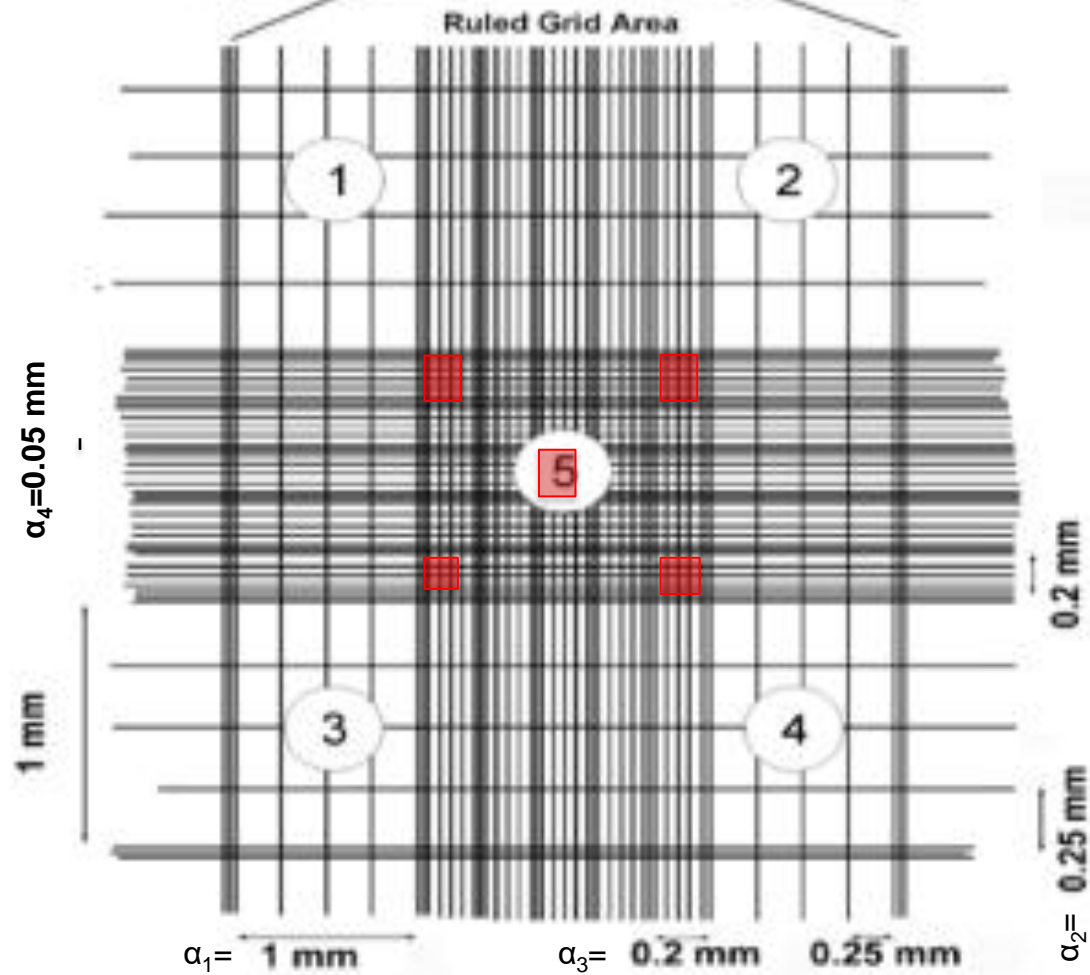
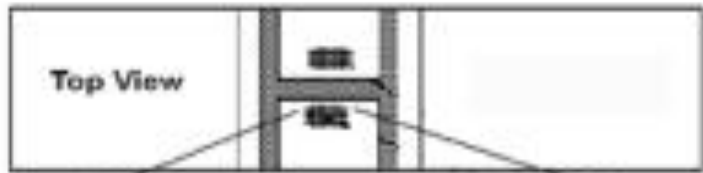
Δραστηριότητα 9: Μέτρηση συγκέντρωσης κυττάρων με χρήση αιμοκυτταρόμετρου

Το αιμοκυτταρόμετρο χρησιμοποιείται για τον υπολογισμό της συγκέντρωσης των ερυθρών αιμοσφαιρίων στο αίμα (αριθμός ερυθρών / μονάδα όγκου). Εδώ θα χρησιμοποιηθεί υγρή καλλιέργεια μονοκύτταρου χλωρόφυτου, *Scenedesmus obliquus*.

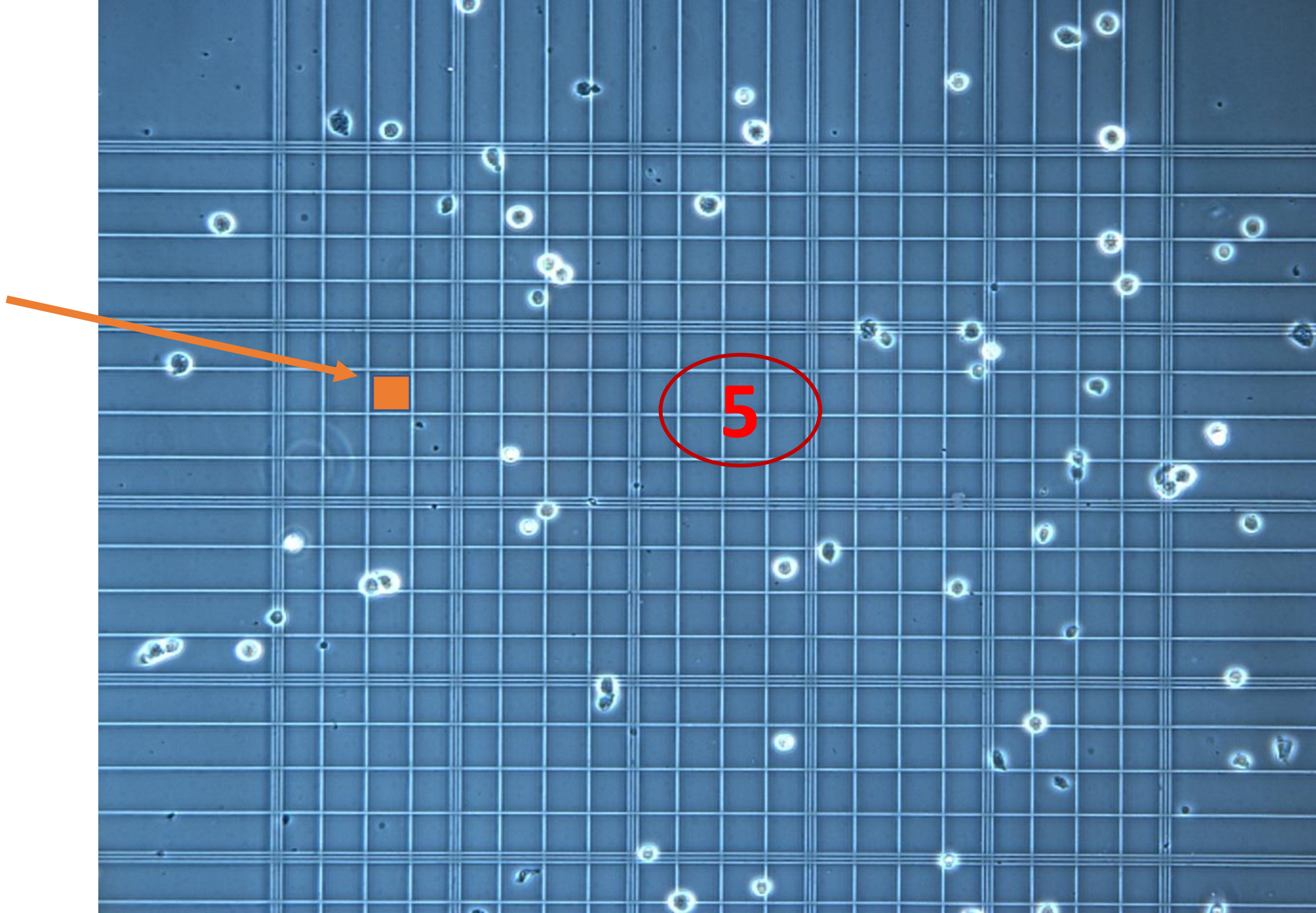




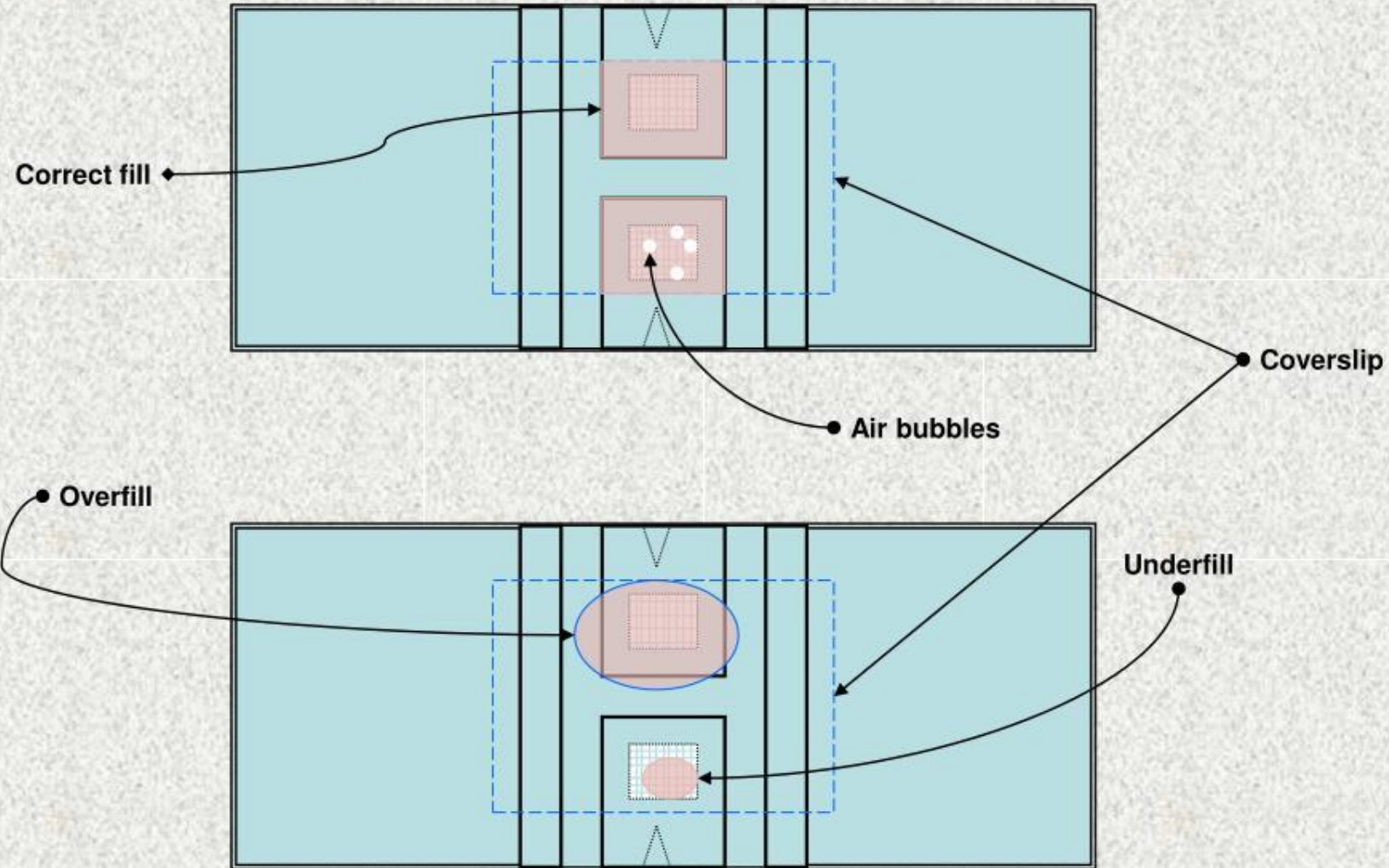






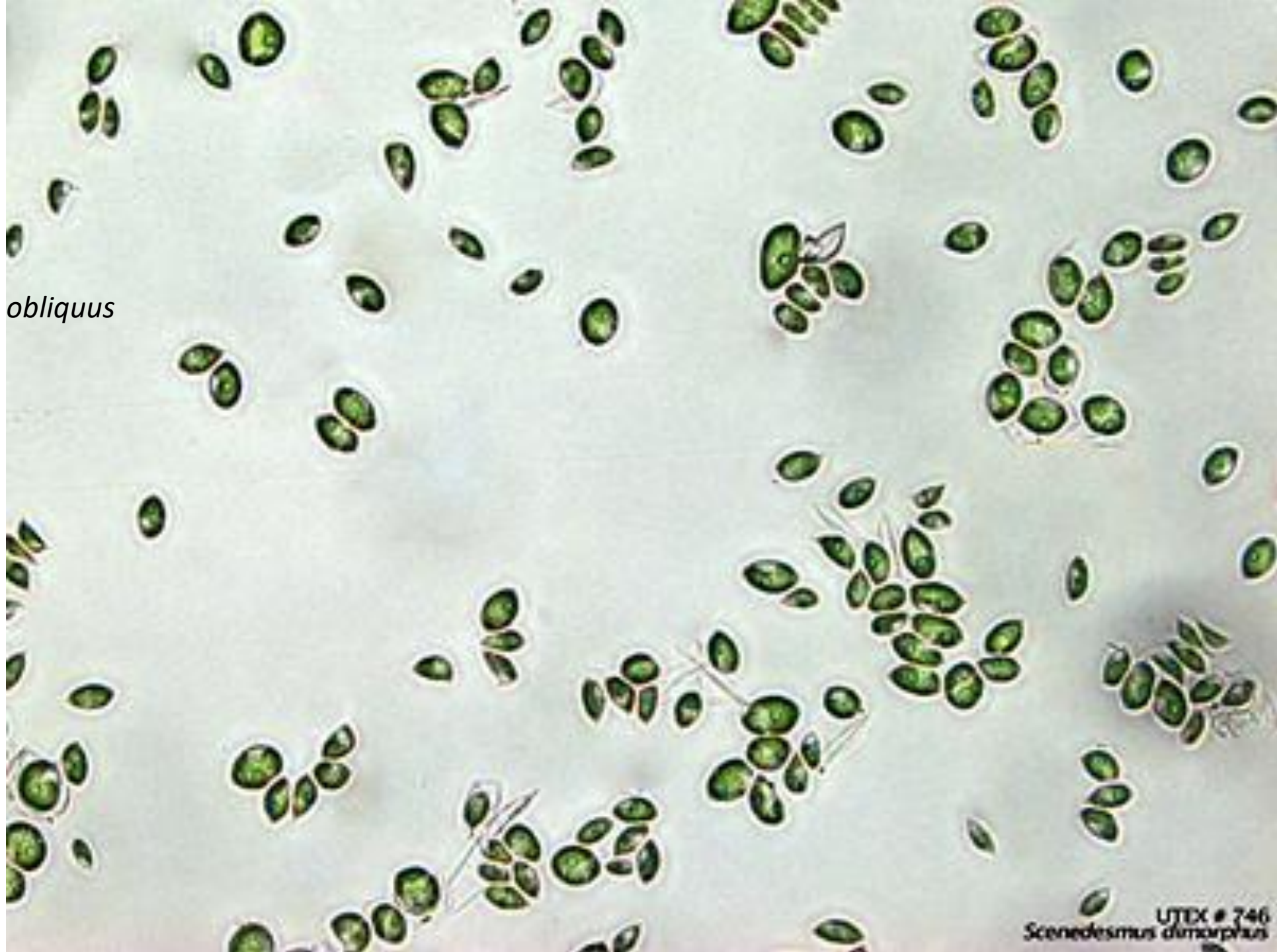


Fill problems



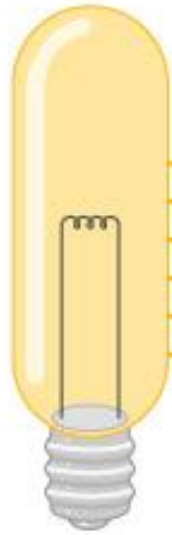
- Τοποθετείστε μια καλυπτρίδα πάνω στο θάλαμο σχήματος **H** του αιμοκυτταρόμετρου
- Προσθέστε με την πιπέτα μια ποσότητα υγρής καλλιέργειας στα όρια της καλυπτρίδας ώσπου να γεμίσει ο θάλαμος. **Προσοχή** να μην ξεχειλίσει.
- Μετρήστε τον αριθμό των κυττάρων που βρίσκονται μέσα σε 5 από τα τετραγωνίδια της κεντρικής περιοχής (5) όγκου $V_4 = 0,25 * 10^{-6} ml$.
- Υπολογίστε τον μέσο όρο των κυττάρων που βρήκατε στα 5 τετραγωνίδια και κάντε την αναγωγή της συγκέντρωσης των κυττάρων ανά ml.

Scenedesmus obliquus

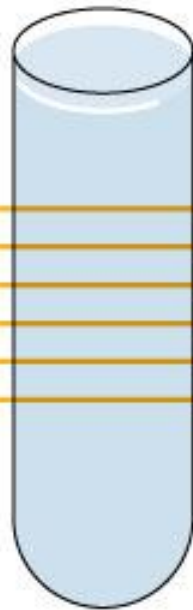


UTEX # 746
Scenedesmus dimorphus

Light source

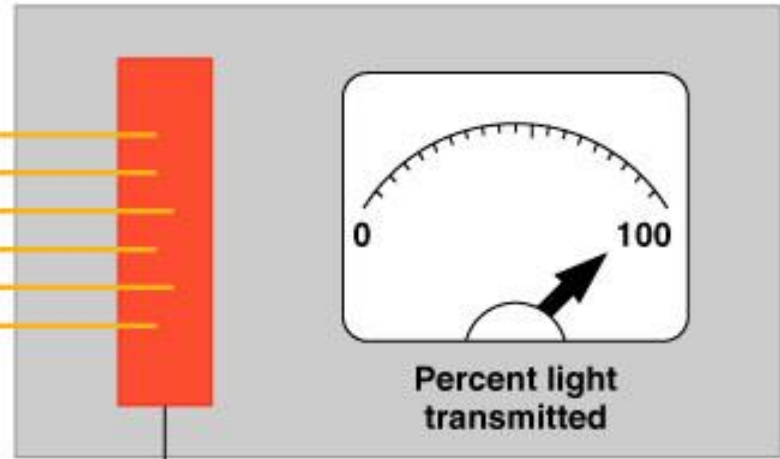


Direct light

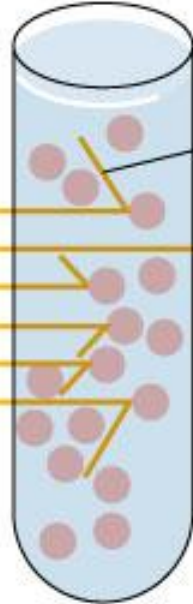
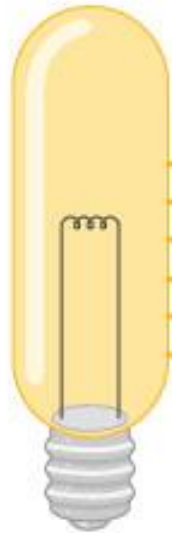


Blank

Spectrophotometer

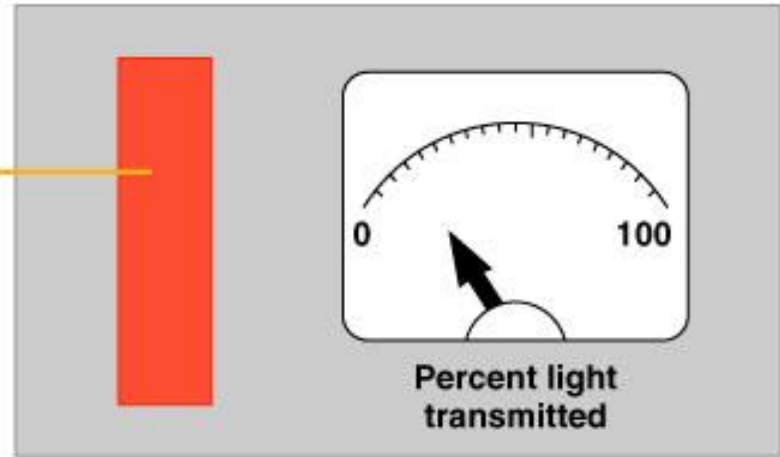


Light-sensitive detector



Bacterial suspension

Scattered light that does not reach detector



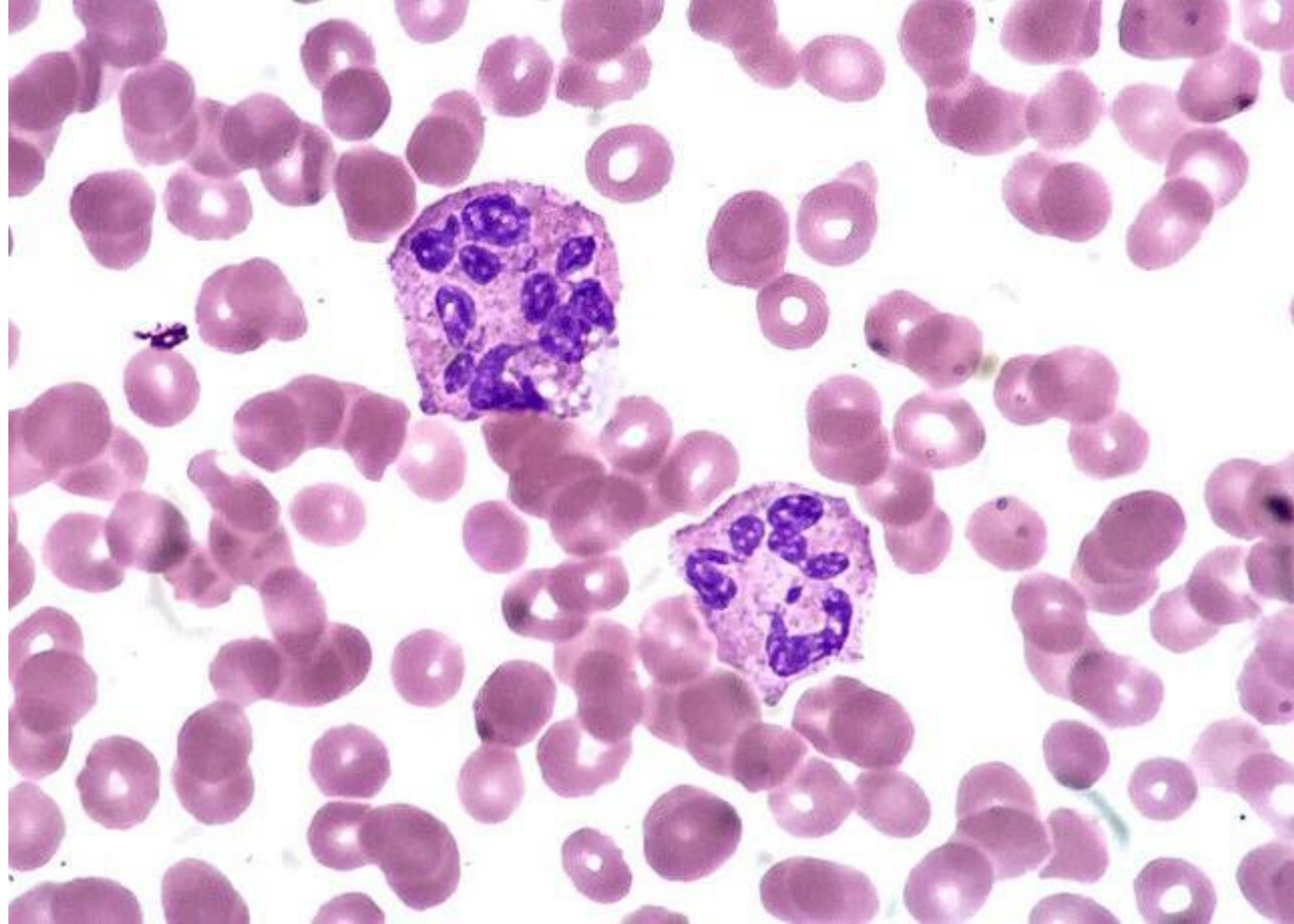
M.O. : 8 κύτταρα/τετραγωνίδιο

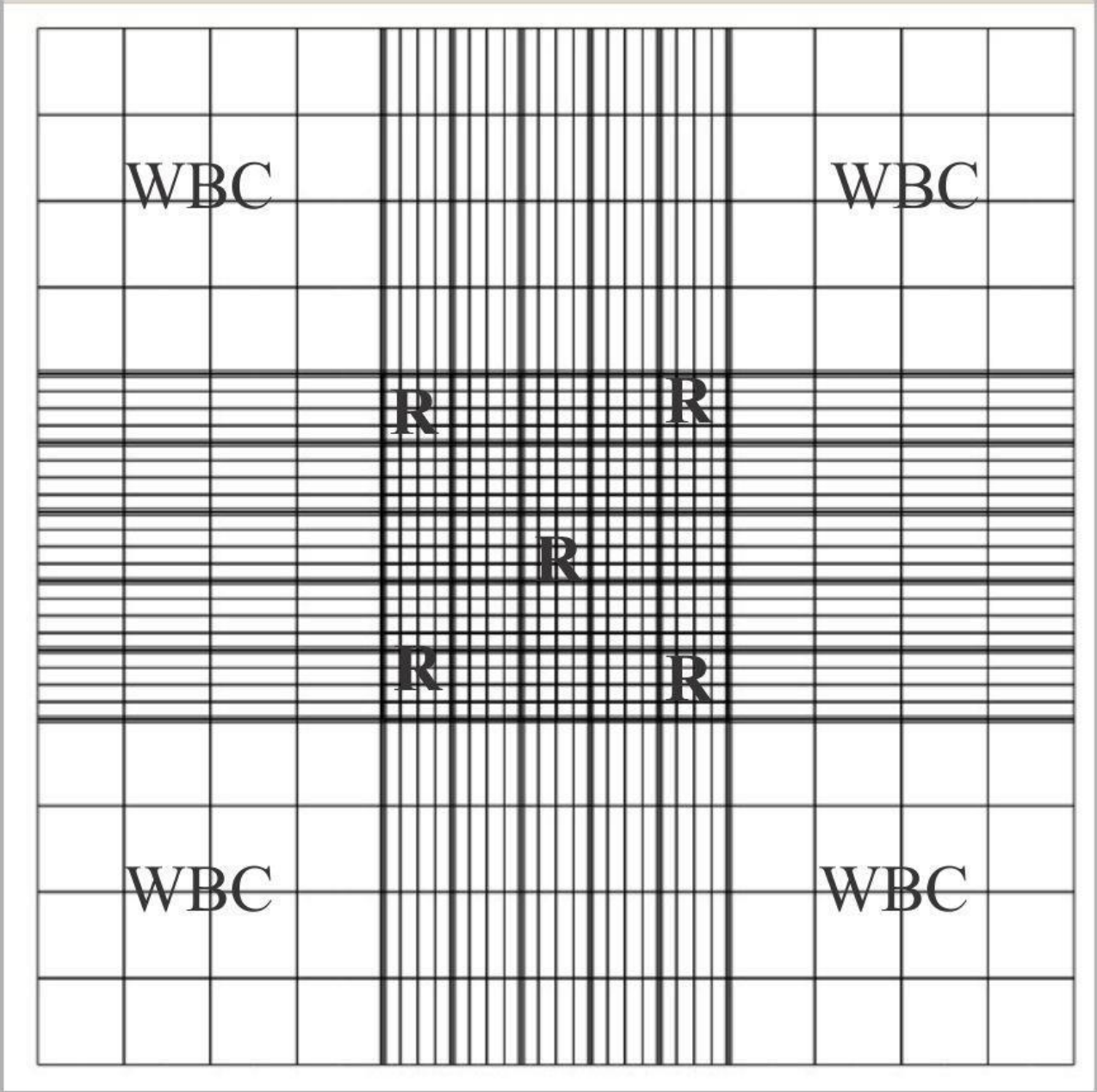
$\alpha_4 = 0,05 \text{ mm}$, $E_4 = 0,0025 \text{ mm}^2$, $V_4 = 0,00025 \text{ mm}^3 = 0,25 \times 10^{-6} \text{ cm}^3$ ή ml

$0.25 \times 10^{-6} \text{ ml}$	8 κύτταρα
1 ml	X;

$$X = (8 \times 1 \text{ ml}) / (0,25 \times 10^{-6} \text{ ml}) = 32 \times 10^6 = 32.000.000 \text{ κύτταρα}$$

32.000.000 κύτταρα/ml





Τέλος