



دانشگاه سindh
په

آزمایشگاه زیست شناسی سلولی

(رشته زیست شناسی)

فریده احسانی طباطبایی فریبا پوررحیمی

بسم الله الرحمن الرحيم

پیشگفتار ناشر

کتاب‌های دانشگاه پیام نور حسب مورد و با توجه به شرایط مختلف یک درس در یک یا چند رشته دانشگاهی، به صورت کتاب درسی، متن آزمایشگاهی، فرادرسی، و کمک درسی چاپ می‌شوند.

کتاب درسی ثمره کوشش‌های علمی صاحب اثر است که براساس نیازهای درسی دانشجویان و سرفصل‌های مصوب تهیه و پس از داوری علمی، طراحی آموزشی، و ویرایش علمی در گروه‌های علمی و آموزشی، به چاپ می‌رسد. پس از چاپ ویرایش اول اثر، با نظرخواهی‌ها و داوری علمی مجدد و با دریافت نظرهای اصلاحی و متناسب با پیشرفت علوم و فناوری، صاحب اثر در کتاب تجدیدنظر می‌کند و ویرایش جدید کتاب با اعمال ویرایش زبانی و صوری جدید چاپ می‌شود.

متن آزمایشگاهی (م) راهنمایی است که دانشجویان با استفاده از آن و کمک استاد، کارهای عملی و آزمایشگاهی را انجام می‌دهند.

کتاب‌های فرادرسی (ف) و **کمک درسی** (ک) به منظور غنی‌تر کردن منابع درسی دانشگاهی تهیه و بر روی لوح فشرده تکثیر می‌شوند و یا در وبگاه دانشگاه قرار می‌گیرند.

مدیریت تولید محتوا و تجهیزات آموزشی

فهرست

راهنمای مطالعه و کار	یازده
مقدمه	پانزده
کاوش ۱. آشنایی و کار با میکروسکوپ	۱
۱. میکروسکوپ نوری (ساختار و مکانیسم)	۲
کار با میکروسکوپ	۶
تنظیم و آماده کردن میکروسکوپ	۸
۲. میکروسکوپ فاز کنتراست	۱۱
۳. میکروسکوپ زمینه سیاه	۱۵
۴. میکروسکوپ الکترونی	۱۶
۵. میکروسکوپ با دید برجسته (میکروسکوپ تشریح)	۱۸
۶. میکروسکوپ فلورئورسانس	۱۹
کاوش ۲. مشاهده چند نوع یاخته‌ی جانوری	۲۱
مفاهیم نظری:	۲۱
بافت پوششی و یاخته‌های آن	۲۲
بافت ماهیچه‌ای مخطط و یاخته‌های آن	۲۲
بافت خونی و یاخته‌های آن	۲۳
فعالیت‌ها:	۲۷
مشاهده‌ی ۱. یاخته‌های پوششی مخاط دهان	۲۷
مشاهده‌ی ۲. یاخته‌های ماهیچه‌ای مخطط	۲۸
مشاهده‌ی ۳. یاخته‌های خون انسان	۲۹
الف) رنگ‌آمیزی با محلول رنگی رایت	۳۰
ب) رنگ‌آمیزی با محلول رنگی گیمسا	۳۱

۳۳	کاوش ۳. مشاهده‌ی چند نوع یاخته‌ی گیاهی
۳۴	مفاهیم نظری:
۳۴	دیواره‌ی یاخته‌ای، پلاستیدها، واکوئل‌ها و انواع بافت‌های گیاهی
۳۶	مشاهده‌ی ۱. یاخته‌های بشره‌ای پیاز
۳۸	مشاهده‌ی ۲. یاخته‌های بشره‌ای کاهو یا تره
۳۸	مشاهده‌ی ۳. یاخته‌های چوب پنبه‌ای
۳۹	مشاهده‌ی ۴. روزنه‌ها و چگونگی عمل آن‌ها
۴۰	مشاهده‌ی ۵. یاخته‌های کلانشیمی
۴۰	مشاهده‌ی ۶. یاخته‌های اسکلرانشیمی
۴۱	مشاهده‌ی ۷. بررسی پلاست‌ها
۴۱	الف) مشاهده‌ی کروموپلاست‌ها
۴۱	ب) مشاهده‌ی آمیلوپلاست‌ها
۴۲	ج) مشاهده‌ی کلروپلاست‌ها
۴۴	مشاهده‌ی ۸. بلورهای گوناگون موجود در یاخته‌های گیاهی
۴۵	مشاهده‌ی ۹. واکوئل‌ها
۴۷	مشاهده‌ی ۱۰. دیواره‌ی سلولزی
۴۸	مشاهده‌ی ۱۱. کروموزوم‌ها و تقسیم میتوزی آن‌ها
۵۳	کاوش ۴. اندازه‌گیری ابعاد یاخته‌ها
۵۴	مفاهیم نظری:
۵۵	طرز تعیین مقیاس درجات میکرومتر چشمی
۵۶	اندازه‌گیری سطح میدان دید میکروسکوپ
۵۷	بررسی آماری ابعاد یاخته‌ها
۵۸	فعالیت‌ها:
۵۸	فعالیت ۱. تعیین مقیاس درجات میکرومتر چشمی
۵۸	فعالیت ۲. مقیاس طول یاخته‌های رنگ شده و رنگ نشده
۵۹	فعالیت ۳. اندازه‌گیری و مقایسه‌ی قطر هسته در یاخته‌ی زنده و یاخته‌ی بی‌جان
۵۹	فعالیت ۴. اندازه‌گیری طول بلورهای کانی در یاخته
۶۰	فعالیت ۵. تعیین تعداد روزنه‌ها در واحد سطح برگ
۶۱	کاوش ۵. شمارش یاخته‌ها و اندازه‌گیری رشد جمعیت آن‌ها
۶۱	مفاهیم نظری:
۶۳	الف) روش شمارش یاخته‌ها
۶۵	ب) روش سنجش پروتئین
۶۶	ج) روش کدورت‌سنجی یا سنجش چگالی نوری

۶۶	فعالیت‌ها:
۶۶	فعالیت ۱. شمارش میکروسکوپی یاخته‌های باکتری و رسم نمودار رشد آن‌ها
۶۸	فعالیت ۲. شمارش یاخته‌های مخمر و رسم نمودار رشد آن‌ها
۶۸	فعالیت ۳. شمارش گویچه‌های سرخ خون
۷۰	فعالیت ۴. شمارش گویچه‌های سفید خون
۷۳	کاوش ۶. مشاهده‌ی تک‌یاختگان و ضmann حرکتی آن‌ها
۷۴	مفاهیم نظری:
۷۴	الف) تک‌یاختگان جانوری
۷۷	ب) تک‌یاختگان گیاهی
۷۸	فعالیت‌ها:
۷۸	فعالیت ۱. مشاهده‌ی تک‌یاختگان زنده
۸۰	فعالیت ۲. رنگ‌آمیزی غیرزیستی هسته
۸۰	الف) رنگ‌آمیزی با لوگل
۸۳	ب) رنگ‌آمیزی با سبز متیل
۸۳	فعالیت ۳. رنگ‌آمیزی غیرزیستی تاژک‌ها و مژک‌ها
۸۳	الف) رنگ‌آمیزی با لوگل
۸۳	ب) رنگ‌آمیزی با آسمیوم - آبی تولوئیدین
۸۴	فعالیت ۴. مشاهده‌ی تک‌یاختگان گیاهی
۸۴	الف) مشاهده‌ی دیاتوم‌ها
۸۴	ب) مشاهده‌ی مخمرها
۸۷	کاوش ۷. رنگ‌آمیزی زیستی
۸۸	مفاهیم نظری:
۸۹	فعالیت‌ها:
۸۹	فعالیت ۱. رنگ‌آمیزی زیستی خون
۸۹	فعالیت ۲. رنگ‌آمیزی زیستی یاخته‌های پوششی دهان
۹۰	فعالیت ۳. رنگ‌آمیزی زیستی مخمر
۹۰	فعالیت ۴. رنگ‌آمیزی زیستی یاخته‌های کلروپلاست‌دار
۹۱	فعالیت ۵. رنگ‌آمیزی زیستی تک‌یاختگان
۹۱	الف) رنگ‌آمیزی زیستی تک‌یاختگان با آبی متیلن
۹۲	ب) رنگ‌آمیزی زیستی تک‌یاختگان با رنگ فلوئورسانس
۹۳	کاوش ۸. تهیه و برش‌گیری بافت‌های تثبیت شده
۹۴	مفاهیم نظری:
۹۴	الف) تثبیت کردن (فیکساسیون)
۹۶	ب) شستشوی بافت

- ۹۶ (ج) آب‌گیری (دهیدراتاسیون)
- ۹۷ (د) شفاف کردن
- ۹۷ (ه) نفوذ دادن پارافین به درون بافت و قالب‌گیری آن
- ۹۹ (و) برش‌گیری
- ۱۰۰ **فعالیت‌ها:**
- ۱۰۰ فعالیت ۱. تهیه‌ی بلوک‌های پارافین آماده جهت برش‌گیری
- ۱۰۰ فعالیت ۲. تهیه‌ی برش‌های نازک با میکروتوم
- ۱۰۳ **کاوش ۹. رنگ‌آمیزی عمومی بافت‌های تثبیت شده**
- ۱۰۴ **مفاهیم نظری:**
- ۱۰۵ الف) پارافین‌زدایی و آب‌دهی
- ۱۰۶ ب) رنگ‌آمیزی
- ۱۰۷ ج) استفاده از دندان‌ه
- ۱۰۸ د) تمایز دادن
- ۱۰۹ ه) آبگیری و شفاف کردن برش‌های بافتی رنگ‌آمیزی شده
- ۱۱۰ و) سوار کردن یا نصب برش‌های رنگ‌آمیزی شده
- ۱۱۱ **فعالیت‌ها:**
- ۱۱۱ فعالیت ۱. رنگ‌آمیزی عمومی برش‌های بافت با هماتوکسیلین و ائوزین
- ۱۱۲ فعالیت ۲. رنگ‌آمیزی برش‌های با هماتوکسیلین – لایت‌گرین
- ۱۱۳ **کاوش ۱۰. رنگ‌آمیزی‌های اختصاصی هسته در بافت‌های تثبیت شده**
- ۱۱۳ **مفاهیم نظری:**
- ۱۱۴ الف) مکانیسم واکنش فولگن
- ۱۱۵ ب) مکانیسم روش براشه
- ۱۱۶ **فعالیت‌ها:**
- ۱۱۶ فعالیت ۱. رنگ‌آمیزی هسته به روش فولگن
- ۱۱۷ فعالیت ۲. رنگ‌آمیزی هسته به روش براشه
- ۱۱۸ فعالیت ۳. رنگ‌آمیزی هسته با کریستال ویوله
- ۱۲۱ فعالیت ۴. رنگ‌آمیزی هسته با کربول فوشین
- ۱۲۳ **کاوش ۱۱. رنگ‌آمیزی اختصاصی اجزاء درون سیتوپلاسم**
- ۱۲۳ **مفاهیم نظری:**
- ۱۲۳ الف) میتوکندری
- ۱۲۴ ب) گلیکوژن
- ۱۲۵ ج) دستگاه گلژی
- ۱۲۶ د) شبکه‌ی آندوپلاسمی خشن یا اجسام نیسل

۱۲۶	فعالیت‌ها:
۱۲۶	فعالیت ۱. رنگ‌آمیزی میتوکندری با فوشین آلتمن
۱۲۷	فعالیت ۲. رنگ‌آمیزی میتوکندری به روش رگو
۱۲۸	فعالیت ۳. رنگ‌آمیزی گلیکوژن بافت جگر به روش بست کارمین
۱۲۹	فعالیت ۴. رنگ‌آمیزی دستگاه گلژی با استفاده از نمک‌های فلزی
۱۳۱	فعالیت ۵. رنگ‌آمیزی اجسام نیسل
۱۳۳	کاوش ۱۲. روش جزء به جزء کردن یاخته‌ها
۱۳۳	مفاهیم نظری:
۱۳۵	روش سانتیریفوژ مرحله به مرحله
۱۳۷	فعالیت‌ها:
۱۳۷	فعالیت ۱. جداسازی هسته‌ی یاخته
۱۳۸	فعالیت ۲. خالص‌تر کردن بخش هسته‌ای
۱۳۹	فعالیت ۳. جداسازی میتوکندری‌ها
۱۳۹	فعالیت ۴. جداسازی میکروزوم‌ها
۱۳۹	فعالیت ۵. جداسازی کلروپلاست
۱۴۱	پیوست یک: محلول‌ها و معرف‌های مورد استفاده
۱۵۷	پیوست دو: وسایل و دستگاه‌های مورد استفاده

راهنمای مطالعه و کار

کتابی که به عنوان راهنمای کارهای آزمایشگاهی در دست مطالعه دارید برای یادگیری هر چه بهتر شما به صورت خودآموز تهیه شده است. این کتاب شامل ۱۲ بخش موسوم به «کاوش» است و هر کاوش یک موضوع کلی را دربر می گیرد که با آزمایش هایی چند مورد بررسی واقع می شود. سازمان بندی، ترتیب و توالی و نوع نگارش این کتاب طوری انتخاب شده است که بتوانید مطالب مورد بحث را آسان تر درک کنید، آن ها را بهتر به ذهن بسپارید و در موارد مقتضی به کار گیرید. به منظور جلوگیری از اتلاف وقت و درک بهتر مفاهیم این کتاب به نکات زیر توجه کنید.

۱. پیش از مطالعه ی کتاب، هدف های آموزشی نهایی آن را بخوانید. این هدف ها به شما خواهند آموخت که هنگام مطالعه باید در پی فهم چه مطالبی باشید و چگونه معلوم کنید که تمام مطالب را یاد گرفته اید. هدف های آموزشی نهایی کتاب به شما نشان می دهند که در پایان مطالعه و یادگیری این درس باید قادر به انجام چه کارهایی باشید. برای اینکه بتوانید کارهای خواسته شده در هدف نهایی را انجام دهید، باید کل کتاب، یعنی کاوش های مختلف آن را مطالعه کنید. آزمایش های توصیه شده را عمل کنید و فعالیت های مورد نظر را انجام دهید. در هر کاوش نیز هدف های آموزشی مربوطه، روش مطالعه و عمل شما و در عین حال انتظار نهایی ما از شما را بیان می کنند. اگر بتوانید به مجموعه هدف های آموزشی کاوش های کتاب دست یابید، در حقیقت به هدف های نهایی کتاب رسیده اید. در مجموع، هدف های آموزشی این کتاب، همانند استاد کلاس درس، به شما می آموزند که این درس را باید چگونه مطالعه کنید، روی

چه نکاتی تأکید ورزید و چه فعالیت‌هایی را انجام دهید. هدف‌های نهایی کتاب و هدف‌های آموزشی کاوش‌ها، در عین حال راهنمای شما برای موفقیت در آزمون این درس هستند. بنابراین، لازم است که در مطالعه و انجام فعالیت‌های هر کاوش ابتدا هدف‌های آموزشی آن را مطالعه کنید. هنگامی که نخستین بار هدفی را می‌خوانید، ممکن است معنای آن را به طور کامل درک نکنید این مسئله چندان غیرطبیعی نیست. با مراجعات مجدد در ضمن مطالعه‌ی متن و یا پس از پایان فعالیت‌های مربوطه، حتماً معنای هدف‌ها را به طور کامل خواهید فهمید و به اهمیت آن‌ها پی خواهید برد.

۲. دانشجویان موظف‌اند طبق برنامه‌ی تنظیم شده در هر جلسه‌ی کار، یک یا چند آزمایش مشخص را انجام دهند و گزارش کار مربوطه را تنظیم کنند و به مربی خود ارائه دهند. برای انجام هر آزمایش، دانشجویان باید به گروه‌های ۲ یا ۳ نفری (برحسب امکانات آزمایشگاه از نظر مواد و وسایل) تقسیم شوند. آزمایش‌ها به صورت مشترک و با همکاری تمامی افراد گروه انجام می‌شود. لازم به یادآوری است که چون در پایان ترم آزمون درس به طور فردی صورت خواهد گرفت، بنابراین، کلیه‌ی افراد گروه باید در مطالعه‌ی مباحث نظری، انجام فعالیت‌های آزمایشگاهی و تهیه‌ی گزارش کار فعالانه شرکت کنند.

۳. در هر کاوش، پس از ذکر هدف‌های آموزشی، ابتدا یک سلسله مفاهیم نظری مطرح می‌شود و سپس این مفاهیم از طریق یک یا چند آزمایش مورد بررسی عملی و دقیق قرار می‌گیرند. در هر آزمایش، پس از ذکر مواد و وسایل ضروری، روش لازم برای انجام کار به صورت گام به گام ارائه می‌شود و سپس با طرح پرسش‌هایی از دانشجو خواسته می‌شود که مشاهدات و نتایج به دست آمده را تعبیر و تفسیر کند و به پرسش‌های خودآزمایی پاسخ دهد.

برای صرفه‌جویی در وقت و نیز داشتن فرصت کافی جهت رفع اشکالات مربوط به مفاهیم نظری و احتمالاً بسط اطلاعات خود در آن زمینه از طریق مراجعه به منابع معرفی شده، دانشجویان باید با توجه به برنامه‌ی زمان‌بندی شده و قبل از ورود به جلسه‌ی کار آزمایشگاهی، کل مطالب مربوط به آن جلسه را عموماً و مفاهیم نظری مربوطه را خصوصاً مطالعه کنند.

پس از مطالعه‌ی هر کاوش، ابتدا وسایل و مواد مورد نیاز هر آزمایش را فراهم

آورید و حداقل یک بار دستور کار آزمایش را قبلاً مطالعه کنید. سپس با دقت و حوصله آزمایش را انجام دهید و نتیجه‌ی کار و صحت آن را با مربی خود کنترل کنید. اگر در حین آزمایش اشتباهی رخ داد و نتیجه مطلوب به دست نیامد، مجدداً آزمایش را تکرار کنید؛ زیرا نتیجه‌ی آزمایش در پایان هر جلسه ارزیابی می‌شود و جمع این نمرات در پایان ترم ۵۰ درصد نمره‌ی آزمون نهایی را تشکیل می‌دهد.

در پایان هر آزمایش، تعدادی پرسش‌های خودآزما آمده است که با پاسخ دادن به آن‌ها می‌توانید کار خود را کنترل کنید. برخی از آزمایش‌ها، مانند میکروتومی یا رنگ‌آمیزی و یا سانتریفوژ، به زمان طولانی نیاز دارند و بعضی از مواد آن‌ها باید ۲۴ یا ۴۸ ساعت قبل تهیه شوند و یا در معرض محلول‌ها و معرف‌ها قرار گیرند، در این صورت توصیه می‌شود که یکی دو نفر از دانشجویان علاقه‌مند، با همکاری مربی، این‌گونه امکانات اولیه را قبل از موعد آزمایش فراهم و آماده کنند تا سایر دانشجویان گروه بتوانند آزمایش را طی یک جلسه به پایان رسانند و به نتیجه‌ی مطلوب برسند.

۴. در هر آزمایش احتمالاً محلول‌ها و یا معرف‌هایی به کار خواهند رفت که باید در آزمایشگاه ساخته شوند. نام برخی از محلول‌های مورد استفاده در این درس و نیز طرز تهیه‌ی آن‌ها در بخش پیوست آخر کتاب آمده است.

مقدمه

یاخته واحد اساسی و زیستی تمام موجودات زنده، اعم از پست و تک‌یاخته‌ای تا عالی و پُریاخته‌ای است و از این رو اولین گام برای مطالعه‌ی دانش زیست‌شناسی داشتن شناخت کافی از ساخت و کار یاخته است و این شناخت زمانی کامل‌تر می‌شود که با عمل و تجربه همراه گردد. امروزه، پژوهشگران به کمک وسایل و دستگاه‌های مجهز و پیشرفته، مانند میکروسکوپ الکترونی و تکنیک‌های دقیق زیست شیمیایی، جزئیات ساختاری و عملی یاخته را بیش از پیش مورد آزمایش و پژوهش قرار داده و در نتیجه به کشفیات جدید و ارزنده‌ای دست یافته‌اند، به‌طوری که امروزه زیست‌شناسی یاخته‌ای و مولکولی یکی از اساسی‌ترین شاخه‌های زیست‌شناسی و در حقیقت بخش اصلی زیست‌شناسی نوین را تشکیل می‌دهد. خوشبختانه روش‌های مطالعه‌ی آزمایشگاهی بسیار متنوع بوده و شامل روش‌های ساده و ابتدایی تا پیچیده و پیشرفته هستند. در این نوشته کوشش شده است که حتی‌الامکان روش‌های آزمایشگاهی نسبتاً ساده و قابل اجرا در یک آزمایشگاه معمولی شرح داده شود.

هدف‌هایی از مطالعه‌ی این نوشته و انجام فعالیت‌های آزمایشگاهی مربوطه این است که دانشجویان ضمن آگاهی از مطالب نظری مربوط به زیست‌شناسی یاخته، به‌طور عملی و تجربی و با استفاده از میکروسکوپ و روش‌های مناسب، با ساخت و کار یاخته‌ها نیز آشنایی پیدا کنند تا از این راه هرچه بیشتر به اهمیت و ارزش فوق‌العاده دقیق و پیچیده‌ی این واحد زیستی پی ببرند. راه رسیدن به این هدف نهایی، مطالعه و یادگیری و انجام فعالیت‌های کاوش‌ها ذکر شده در صفحات بعد است.

کاوش اول

آشنایی و کار با میکروسکوپ

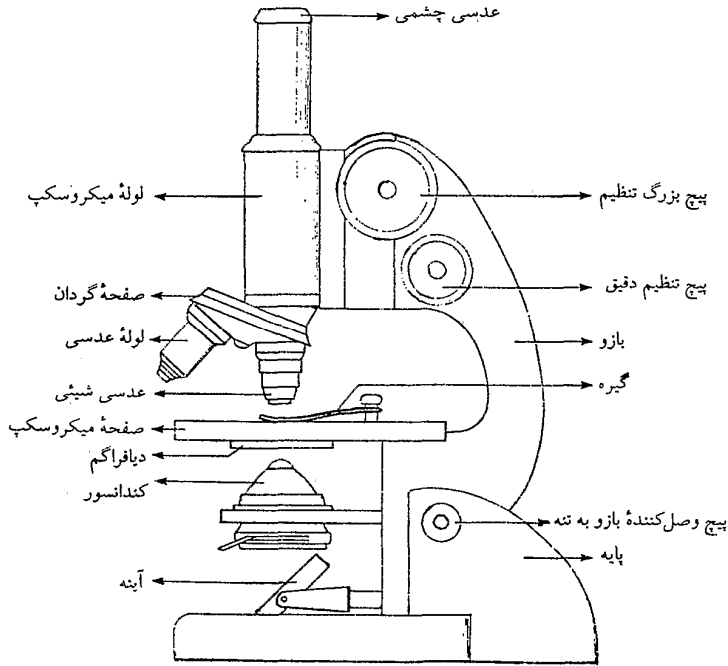
میکروسکوپ دستگاهی است که برای مشاهده و بررسی اجسام بسیار ریزی که با چشم قابل رؤیت نیستند به کار می‌رود. میکروسکوپ به شناخت بهتر جانداران کمک فراوانی کرده و به‌ویژه به زیست‌شناسان امکان داده است که به جزئیات ساختاری پیکر گیاهان و جانوران و اجزاء یاخته‌ای آن‌ها پی ببرند. با توجه به اینکه مشاهده و بررسی بیشتر یاخته‌ها و تمامی اجزاء آن‌ها جز با میکروسکوپ امکان‌پذیر نیست، قبل از هرچیز آشنایی با میکروسکوپ و طرز کار و همچنین انواع آن جهت انجام آزمایش‌های مربوط به زیست‌شناسی یاخته ضرورت بسیار دارد.

در این کاوش، پس از شرح ساختار و طرز کار میکروسکوپ نوری^۱، به توضیح مشخصات انواع دیگر میکروسکوپ‌ها و کاربرد آن‌ها می‌پردازیم. هدف آموزشی این کاوش این است که نهایتاً بتوانید کارهای زیر را انجام دهید:

۱. ساختار قسمت‌های مختلف میکروسکوپ نوری ساده را شرح دهید.
۲. مکانیسم میکروسکوپ نوری ساده را توضیح دهید.
۳. یک نمونه‌ی میکروسکوپی ساده را تهیه کنید و آن را با میکروسکوپ نوری به نحو صحیح مورد مشاهده قرار دهید.
۴. با ساختار و مکانیسم میکروسکوپ‌های فاز کنتراست، زمینه سیاه، الکترونی، دید برجسته و فلوئورسانس آشنا شوید.

۱. میکروسکوپ نوری (ساختار و مکانیسم)

ساختار- میکروسکوپ نوری ساده و معمولی شامل اجزاء زیر است (شکل ۱-۱):



شکل ۱-۱. ساختار میکروسکوپ نوری ساده

- **لوله^۱ میکروسکوپ:** استوانه‌ای است به طول تقریبی ۲۰ تا ۲۵ سانتی‌متر که

عدسی چشمی در بالای آن قرار دارد و از پایین به صفحه‌ی گردان متصل است. این لوله، که در حقیقت قسمت اصلی میکروسکوپ است، شکل‌های مختلف دارد و در بعضی از میکروسکوپ‌ها دو قسمتی است به‌طوری که قسمتی از لوله‌ی بالایی می‌تواند در لوله‌ی پایینی بالا و پایین برود.

- **عدسی‌های چشمی^۲:** دو عددند که در دو انتهای لوله کوتاهی نصب شده‌اند و

این لوله‌ی کوتاه در بالای لوله‌ی هر میکروسکوپ جای می‌گیرد. هر میکروسکوپ معمولاً چند عدسی چشمی قابل تعویض دارد که بزرگ‌نمایی^۳ آن‌ها متفاوت است.

1. Tube
2. Ocular (eye pieces)
3. magnification

میزان بزرگ‌نمایی عدسی با عددی که در جلوی علامت «x» قرار می‌گیرد مشخص می‌گردد (مثلاً: ۵x، ۱۰x، ۱۵x) و معمولاً از عدسی ۱۰x بیشتر استفاده می‌شود.

- **عدسی‌های شیئی^۱:** هر عدسی شیئی درون لوله‌ی کوتاهی قرار دارد که به صفحه‌ی گردان میکروسکوپ پیچ شده است. عدسی‌های شیئی نیز بزرگ‌نمایی‌های متفاوت دارند. عدسی‌های دارای بزرگ‌نمایی کمتر (مثلاً: ۴x، ۸x، ۱۰x یا ۲۵x) را عدسی ضعیف^۲ و عدسی‌های دارای بزرگ‌نمایی بیشتر (مثلاً: ۴۰x، ۶۰x یا ۱۰۰x) را عدسی قوی^۳ می‌خوانند.

- **صفحه‌ی گردان^۴:** قسمتی است که عدسی‌های شیئی روی آن نصب شده‌اند و با گرداندن این صفحه، عدسی شیئی دلخواه در انتهای پایینی لوله‌ی میکروسکوپ قرار می‌گیرد.

- **پیچ بزرگ تنظیم^۵:** پیچ بزرگی است که در قسمت بالای بازوی میکروسکوپ قرار دارد و لوله‌ی میکروسکوپ را به میزان زیاد از صفحه‌ی میکروسکوپ دور و یا به آن نزدیک می‌کند. این پیچ برای میزان کردن تقریبی دستگاه به کار می‌رود.

- **پیچ تنظیم دقیق^۶:** پیچ کوچک‌تری است که در قسمت پایین بازوی میکروسکوپ قرار دارد و لوله‌ی میکروسکوپ را به میزان کم پایین و بالا می‌برد و برای میزان کردن دقیق اجسام و اندازه‌گیری ضخامت آن‌ها به کار می‌رود.

- **بازو^۷:** بخشی است که لوله و پیچ‌های تنظیم و قسمت‌های دیگر میکروسکوپ روی آن نصب شده‌اند. برای حمل میکروسکوپ معمولاً بازوی آن را در دست می‌گیرند.

- **صفحه‌ی میکروسکوپ^۸:** صفحه‌ای است به شکل دایره‌ای یا مربع که سوراخی در وسط دارد. نمونه‌ی مورد مطالعه را معمولاً در وسط سوراخ قرار می‌دهند. روی صفحه دو گیره برای نگه‌داشتن لام نصب شده است که لام را به‌طور افقی و در جهات مختلف حرکت می‌دهند.

1. Objective lens
2. Low power
3. High power
4. Nose pieces
5. Coarse adjustive
6. Fine adjustive
7. Arm
8. Stage

- **کندانسور**^۱: بخشی از میکروسکوپ است که از دو یا سه عدسی تشکیل شده است و نور را در سوراخ صفحه میکروسکوپ متمرکز می‌کند. میکروسکوپ‌های خیلی ساده کندانسور ندارند اما میکروسکوپی که در آزمایشگاه با آن کار می‌کنید دارای کندانسور است.

- **دیافرام**^۲: قسمتی است که زیر صفحه‌ی میکروسکوپ قرار دارد و مقدار نوری را که وارد میکروسکوپ می‌شود کم یا زیاد می‌کند.

- **آینه یا چراغ میکروسکوپ**: در زیر کندانسور قرار دارد و نور را از سوراخ صفحه میکروسکوپ به جسم می‌تاباند آینه‌ی میکروسکوپ معمولاً دو رویه دارد که یک رویه‌ی آن مسطح و رویه‌ی دیگر آن مقعر است. در نور شدید از آینه‌ی مسطح و در نور ضعیف از آینه‌ی مقعر استفاده می‌شود اکثر میکروسکوپ‌های جدید که در آزمایشگاه‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند، به جای آینه یک چراغ به‌عنوان منبع نور دارند.

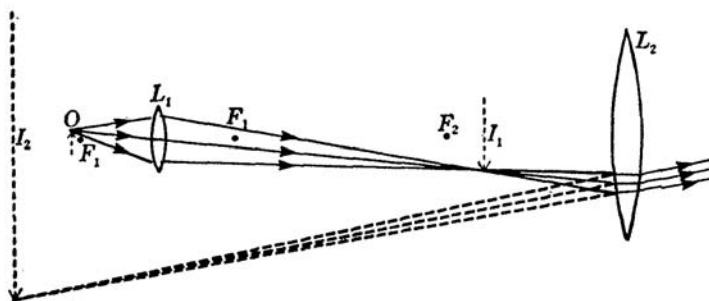
- **پایه**^۳: قسمت نعل اسب شکلی است که تمام قسمت‌های میکروسکوپ روی آن قرار دارند.

- **مکانیسم**: میکروسکوپ نوری یا مرکب (چون در ساختار این میکروسکوپ چند عدسی به‌کار رفته است به آن میکروسکوپ مرکب نیز می‌گویند) دارای دو سیستم عدسی چشمی و شیئی با محور کانونی یکسان و عدسی کندانسور است که شعاع‌های نور ابتدا توسط کندانسور بر روی نمونه متمرکز می‌شود و پس از یافتن تغییراتی وارد عدسی شیئی می‌گردد، عدسی شیئی تصویری از جسم مورد مشاهده در عدسی چشمی ایجاد می‌کند و عدسی چشمی نیز مانند یک ذره‌بین این تصویر را بزرگ‌تر کرده روی شبکیه‌ی چشم منعکس می‌سازد. شکل ۱-۲ مسیر نور را در میکروسکوپ نوری معمولی نشان می‌دهد.

میزان بزرگ‌نمایی در میکروسکوپ نوری برابر است با حاصل ضرب بزرگ‌نمایی عدسی شیئی در عدسی چشمی. دقت عمل هر میکروسکوپ بستگی به قدرت تفکیک^۴ و تمایز آن دارد. قدرت تفکیک میکروسکوپ عبارت است از توانایی آن در ایجاد

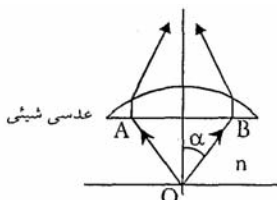
1. Condensor
2. Diaphragm
3. Base
4. Resolution

تصاویر مجزا از دو نقطه‌ی نزدیک به هم یا، به عبارت دیگر توانایی تشخیص دو نقطه که حداقل فاصله را با یکدیگر داشته باشند. این حداقل فاصله‌ی بین دو نقطه را حد تفکیک میکروسکوپ^۱ می‌گویند. حد تفکیک میکروسکوپ هر چه کمتر باشد قدرت تفکیک و تمیز آن بیشتر است. حداقل حد تفکیک میکروسکوپ در نور سفید $0.25 \mu\text{m}$ میکرون است، درحالی‌که حد تفکیک چشم غیر مسلح حدود 0.1 mm میلی‌متر است.

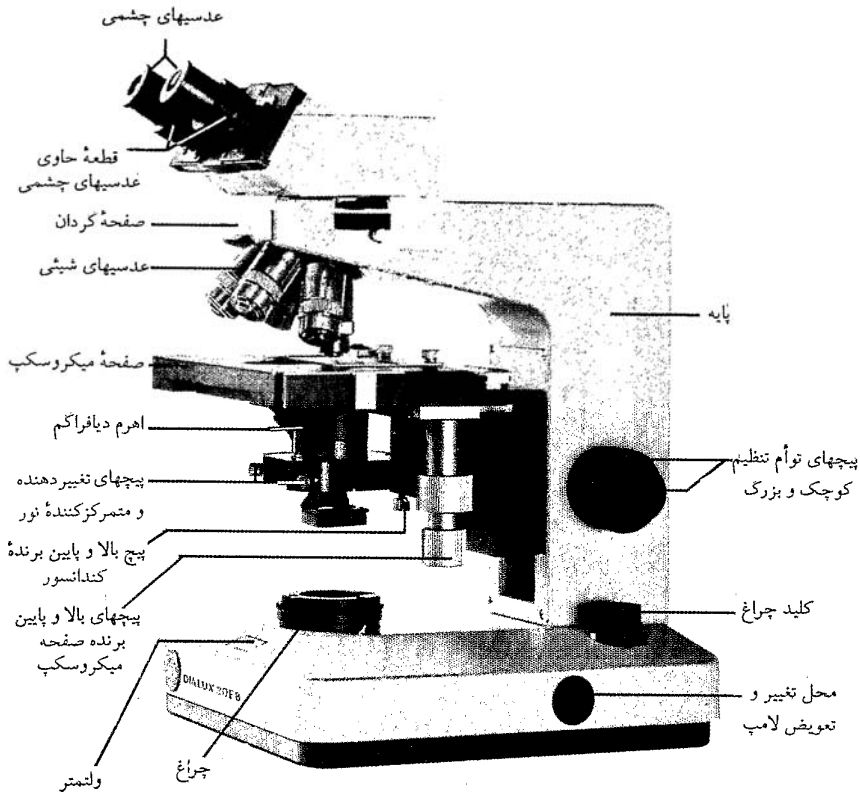


شکل ۱-۲ مسیر نور در میکروسکوپ نوری: جسم (o) درست خارج از کانون عدسی شیئی (L_1) قرار می‌گیرد و این عدسی تصویری حقیقی و معکوس (I_1) از آن ایجاد می‌کند. این تصویر در فاصله‌ی کانونی عدسی چشمی (L_2) قرار گرفته و برای آن به‌عنوان یک شیئی عمل می‌کند، به‌طوری‌که عدسی چشمی (L_2) از آن تصویری مجازی و بزرگ (L_2) برای چشم می‌سازد.

۱. حد تفکیک میکروسکوپ از رابطه $\Sigma = \frac{0.61\lambda}{n \sin \alpha}$ به دست می‌آید: در این رابطه، Σ حد تفکیک λ طول موج نور مورد استفاده و α عبارت است از نصف زاویه‌ی گشودگی عدسی یا نصف رأس مخروط نورانی که وارد عدسی شیئی می‌شود (با مراجعه به شکل مربوطه) و n ضریب شکست محیط شفاف بین جسم و عدسی شیئی است. اگر این محیط شفاف هوا باشد، n برابر یک است. بر طبق رابطه‌ی فوق، هر چه زاویه α بیشتر باشد (حداکثر زاویه $\alpha = 90^\circ$ است که سینوس آن برابر ۱ است) و یا، هر چه طول موج نور مورد استفاده کمتر باشد، حد تفکیک عدسی کوچک‌تر است. و در نتیجه قدرت تفکیک و تشخیص آن بالاتر می‌رود. بر طبق رابطه، با افزایش n نیز قدرت تفکیک میکروسکوپ بالا می‌رود. n را می‌توان با استفاده از یک جسم پرنکنده‌ی فضای بین جسم و عدسی نظیر روغن سدر که ضریب شکست آن برابر 1.51 و معادل ضریب شکست شیشه‌ی لام (1.52) است، افزایش داد.



نمایش زاویه‌ی α و مخروط نور در میکروسکوپ نوری.



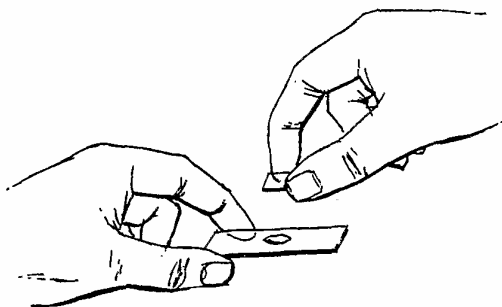
شکل ۱-۳. میکروسکوپ نوری دو چشمی پژوهشی

کار با میکروسکوپ

آماده کردن نمونه‌ی میکروسکوپی: جسمی با میکروسکوپ قابل مشاهده است که نور بتواند از آن عبور کند و از عدسی‌ها گذشته به چشم برسد. به علاوه این جسم باید آن قدر نازک باشد که جزئیات ساختاری آن به وضوح دیده شود. از این رو برای مشاهده و بررسی جانداران بسیار کوچک یا قسمتی از بدن جانوران و گیاهان و یا یاخته‌های آن‌ها با استفاده از «روش‌های ویژه‌ی تهیه‌ی برش‌ها»^۱ مقاطع و ساختارهای

۱. این روش‌ها در آزمایشگاه‌های مختلف متفاوت و متنوع‌اند، از قبیل برش‌گیری و میکروتومی که به کمک آن مقاطع بسیار نازکی از یک اندام یا بافت تهیه می‌کنند. روش‌های رنگ‌آمیزی ساختارهای یاخته‌ای و بافتی را به وسیله‌ی رنگ‌های مختلف نمودار و مشخص می‌سازند که در صفحات بعد با بعضی از این روش‌ها آشنا خواهید شد.

یاخته‌ای نازک و مشخصی تهیه می‌کنند که به آن نمونه‌ی میکروسکوپی می‌گویند. جسمی را که می‌خواهند در زیر میکروسکوپ مشاهده کنند روی یک تیغه‌ی شیشه‌ای نازک (لام)^۱ یا اسلاید^۲ قرار می‌دهند و سپس روی آن را با تیغه‌ی بسیار نازک شیشه‌ای (لامل)^۳ می‌پوشانند. شکل ۱-۴ طرز نگاه‌داشتن لام و لامل را نشان می‌دهد.



شکل ۱-۴. طرز نگاه‌داشتن لام و لامل: همیشه لبه‌ی لام و لامل را در دست می‌گیرند زیرا تماس انگشتان با سطح آن‌ها درست نیست.

اکنون برای شروع کار با میکروسکوپ نمونه‌ی میکروسکوپی بسیار ساده‌ای را به شرح زیر تهیه کنید:

(الف) لام تمیزی را روی میز قرار دهید و با قطره چکان قطره‌ای آب در وسط آن بچکانید (شکل ۱-۵، الف).

(ب) قطعه‌ی بسیار کوچکی (به اندازه‌ی یک سانتی‌متر مربع) از کاغذ روزنامه ببرید و آن را با پنس روی قطره‌ی آب وسط لام قرار دهید و چند لحظه صبر کنید تا کاغذ خوب خیس شود (شکل ۱-۵، ب).

(ج) لاملی را بردارید و یک لبه‌ی آن را با زاویه‌ی حدود ۴۵ درجه روی لام تکیه دهید و سپس آن را با نوک سوزن به آرامی پایین بیاورید تا کاغذ را بپوشاند (شکل ۱-۵، ج)، با این عمل از تشکیل حباب هوا بین لام و لامل جلوگیری می‌شود. اگر با همه‌ی احتیاط معمول حباب هوا ایجاد شد، با نوک مداد کمی لامل را فشار دهید تا حباب خارج گردد.