

POKYNY PRO STUDENTY VE CVIČENÍ Z obecné zoologie:

1. **Bezpečnost práce:** ve cvičení obecné zoologie hrozí nebezpečí úrazu nebo poškození zdraví při práci:

- s elektrickým proudem
- s preparačními nástroji a mikroskopickými sklíčky
- s chemikáliemi (čištění preparátů)
- s biologickým materiálem

2. **Ochranné pomůcky:** pláště dle vlastního uvážení, rukavice jsou ve cvičení k dispozici (týká se jen několika úloh).

3. **Udělení zápočtu:** Pro udělení zápočtu je nutné: – Účast ve cvičení – cvičení jsou povinná. V průběhu semestru není tolerována žádná absence. Jediná či dvě náhrady budou probíhat 3.5. ve 12.05 nebo 13.00 hod. Na podobě protokolu při absenci je nutné se dohodnout s vyučujícím. Ve výjimečných případech déletrvajících absencí (nemoc, cesta do zahraničí apod.) je nutné se předem s vyučujícím domluvit na řešení. Alespoň jeden státní svátek bude nahrazen v termínu 21. nebo 22.5.

- Protokoly uznané vyučujícím
- Závěrečné poznávání preparátů

Protokoly:

Na nelinkované listy A4, v záhlaví protokolu z jednotlivých cvičení uvést jméno, skupinu (např. Pá 7.00), datum a téma cvičení.

- Konečná úprava protokolů je individuální.
- Jednotlivé listy protokolu spojit sešíváčkou. • Protokoly se odevzdávají v průběhu semestru, vždy následující hodinu. V případě vážných nedostatků a chyb musí student protokol přepracovat, nedostatky odstranit a opravený protokol předložit co nejdříve znovu ke kontrole. Neopravené nedostatky v protokolech mohou být důvodem neudělení zápočtu.
- Obrázky: kreslit měkkou tužkou, na stránku maximálně 2 obrázky, každý obrázek musí být popsán (perem), popis co nejvíc podrobný. U každého obrázku musí být uveden: - název preparátu - použité zvětšení - podrobný popis • **KRESLÍME V HODINĚ PODLE MIKROSKOPU, NEPŘEKRESLUJEME DOMA!!!**

Co do protokolu z tohoto cvičení?

Schéma mikroskopu (můžete nakreslit nebo vytisknout a nalepit) s popisem mechanických a optických částí Základní pojmy (numerická apertura, rozlišovací schopnost, hloubka ostrosti, pracovní vzdálenost, zvětšení užitečné a prázdné...)

Postup přípravy histologického řezu

Postup při mikroskopování

Postup práce s imerzí

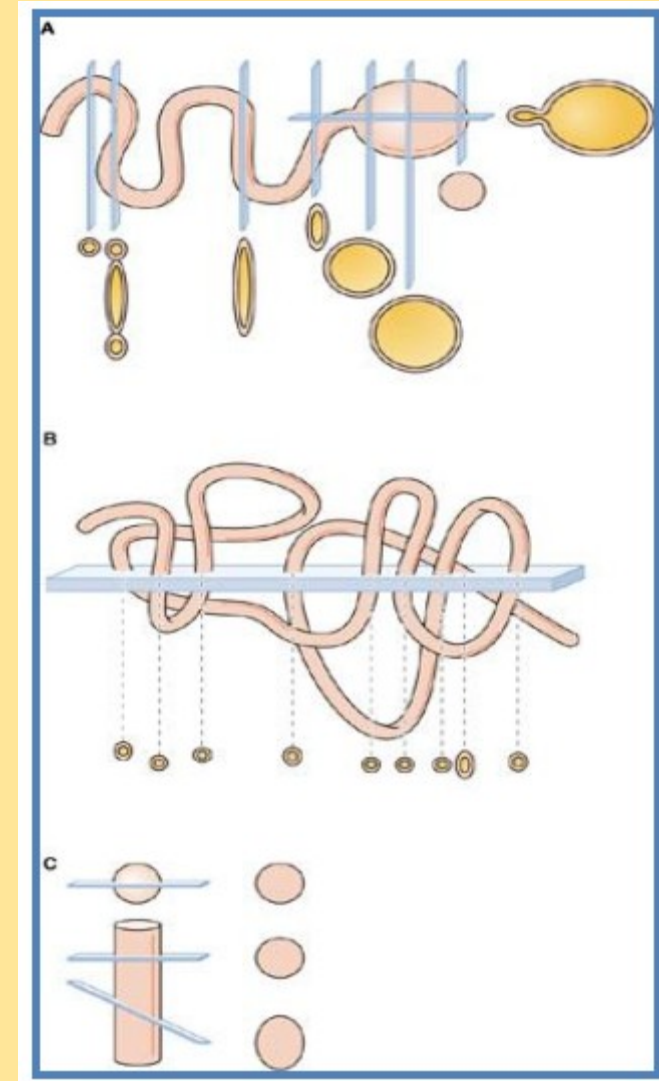
Nákres (s popisky!) a zvětšení pozorovaného preparátu

HISTOLOGICKÉ METODY

- Histologie - z řečtiny: histos = tkáň, logos = nauka)
- Příprava řezů tkání z orgánů • Mikroskopie – analýza tkáně pomocí světelné a elektronové mikroskopie
- Zpracování tkání pro mikroskopii (krájení, barvení)

ZPRACOVÁNÍ TKÁNÍ PRO MIKROSKOPII I.

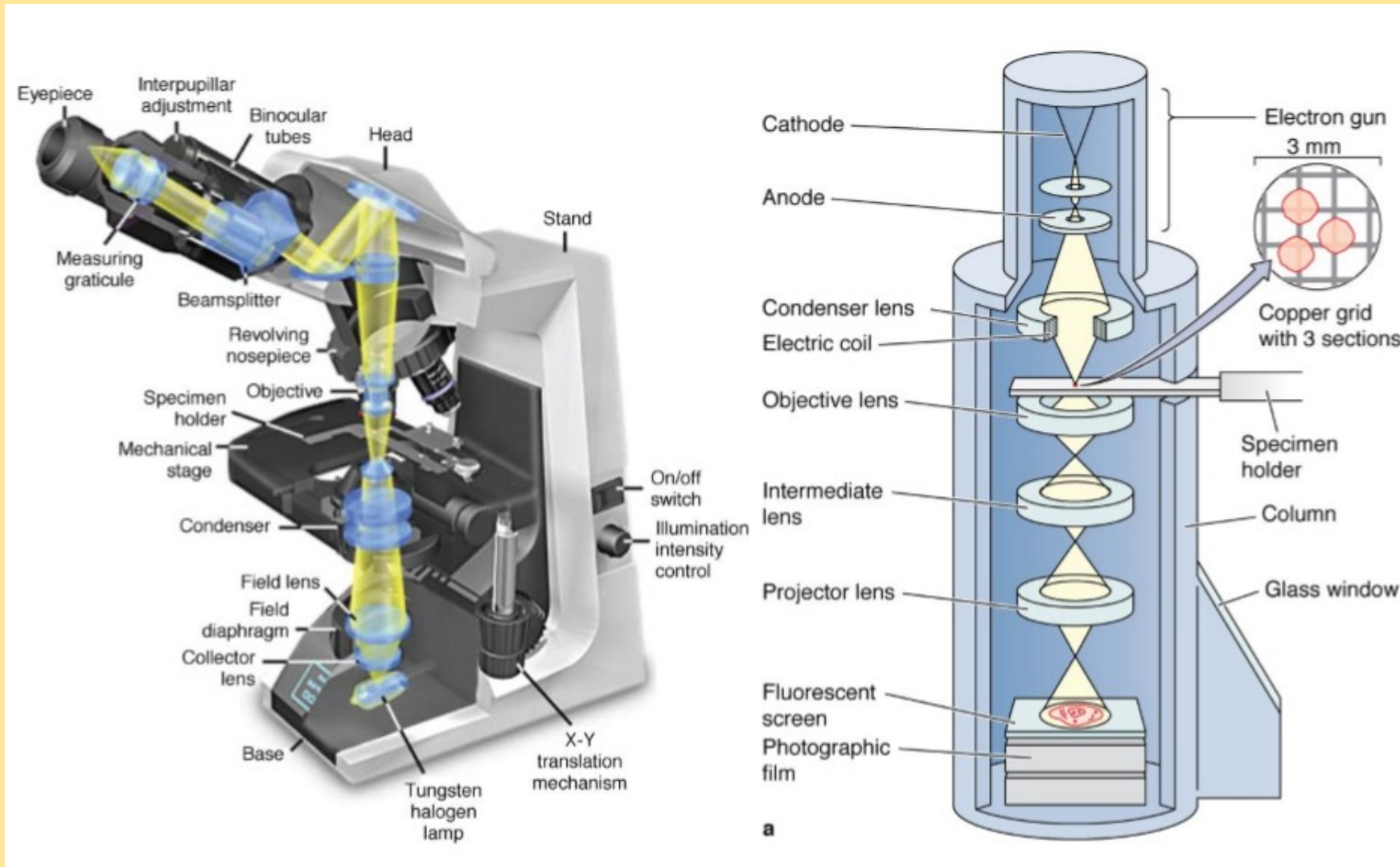
- ! Omezení → artefakty
- Řezy → ! 2D představa 3D struktur → série řezů (rekonstrukce)



ZPRACOVÁNÍ TKÁNÍ PRO MIKROSKOPII

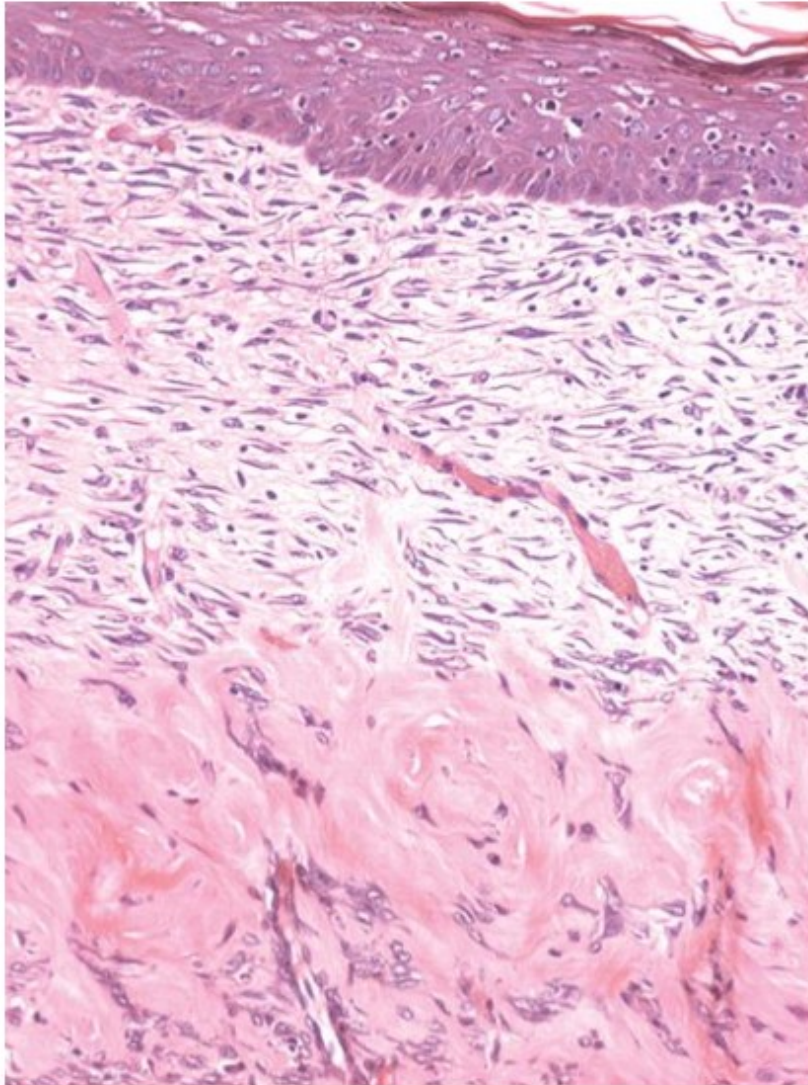
- SM • Fixace (chem., fyz.) • Odvodnění (ethanol) • Projasnění (xylen) • Prosycení (xylen/parafin) • Zalití (parafín) • Krájení (mikrotom) • Montování (na podlož. sklo) • Odparafinování • Rehydratace • Barvení • Odvodnění • Xylen • Kanadský balzám • Světelná mikroskopie
- EM • Fixace (chem., fyz.) • Odvodnění (ethanol) • Projasnění (propylenoxid) • Prosycení (prop./pryskyřice) • Zalití (pryskyřice) • Krájení (ultramikrotom) • Montování (Cu síťka) • Barvení, kontrastování • TEM (transmisní)
- Fixace • Odvodnění (ethanol) • Vysoušení (kritický bod) • Montování (držák) • Pokovení • SEM (skenovací)

Druhy mikroskopů (světelný, elektronový)

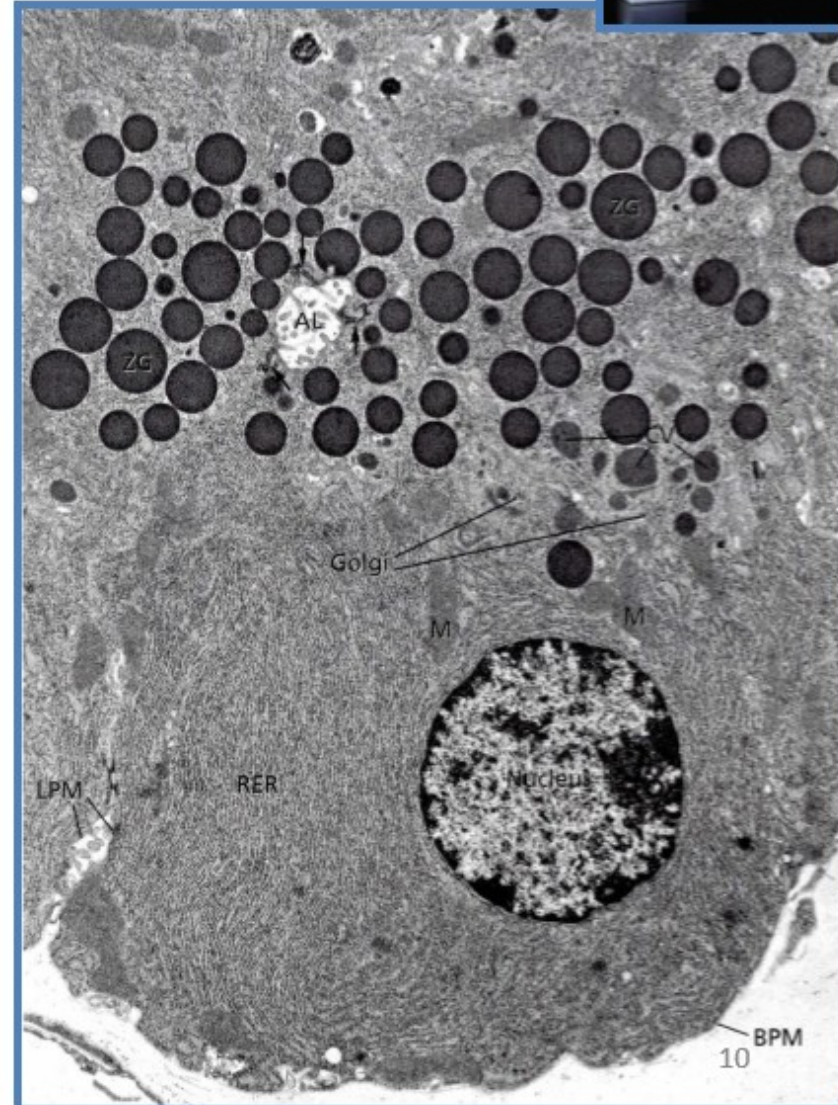




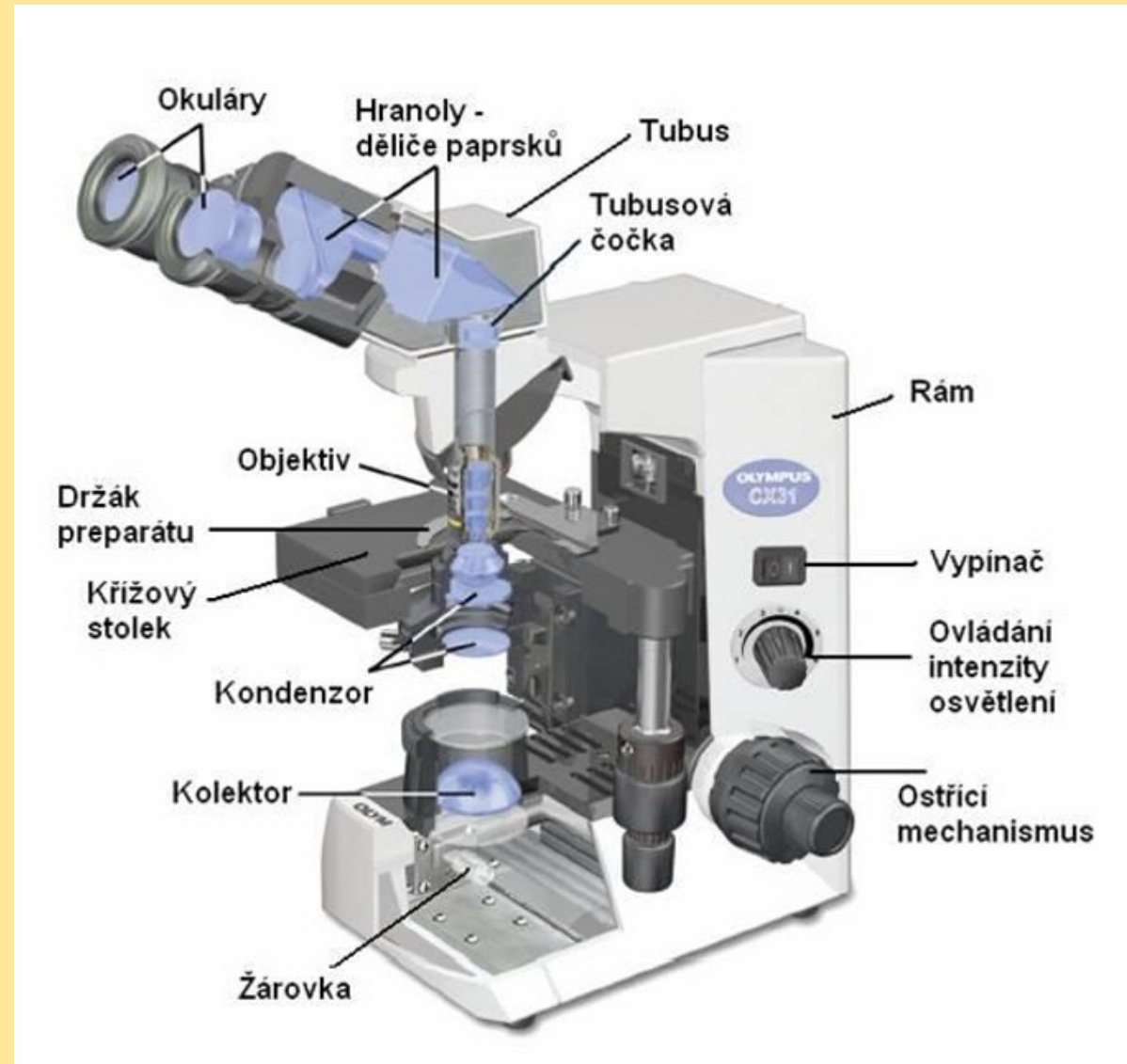
Světelný mikroskop



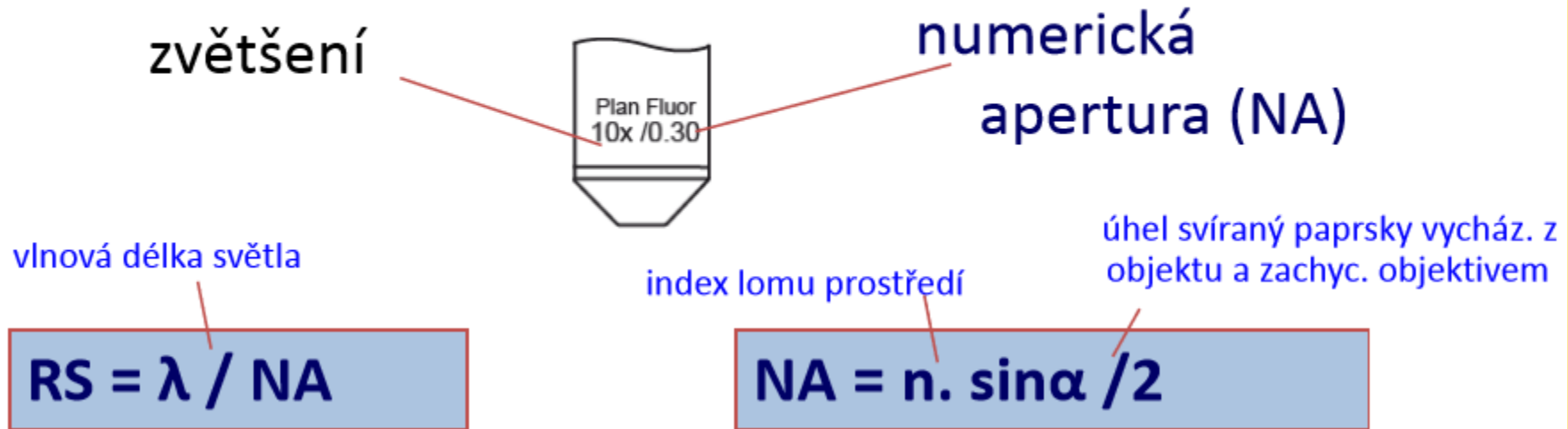
Elektronový mikroskop



Stavba mikroskopu

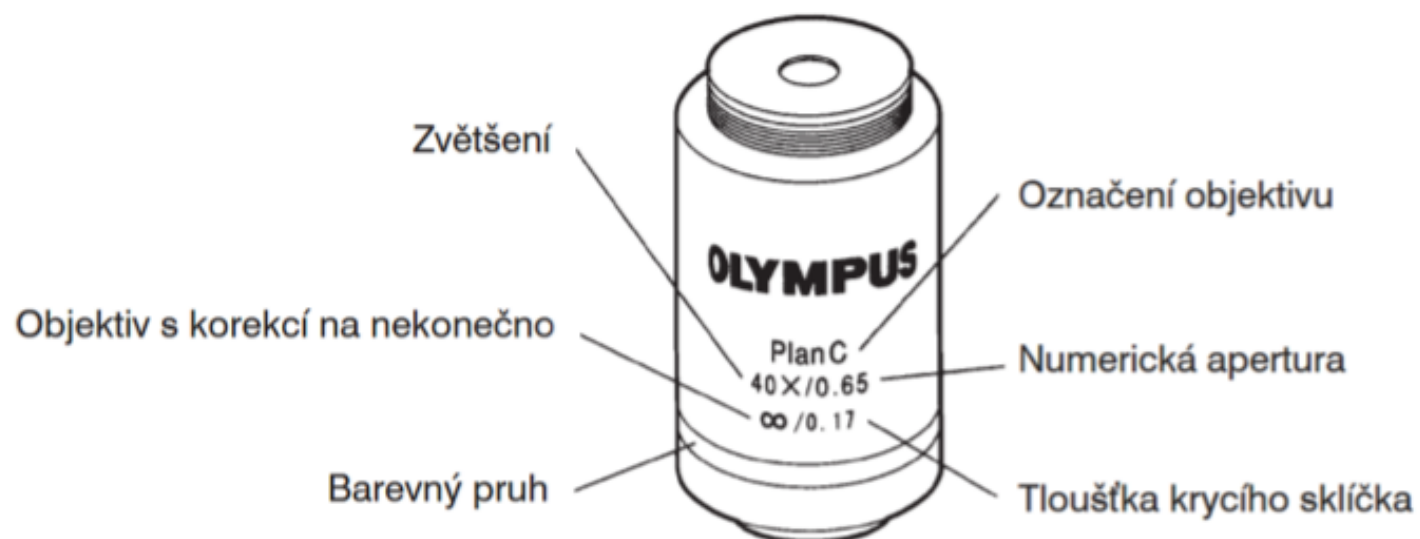


Objektiv – zajišťuje zvětšení a rozlišení



- NA – charakterizuje společně s vlnovou délkou rozlišovací schopnost = RS (čím blíže k 1, tím RS větší)
- RS – vzdálenost dvou bodů, které mikroskop zobrazí jako dva samostatné body
- RS lze zvýšit
 - A) snížením λ – využití vlastností elektronů (elektronová mikroskopie)
 - B) zvyšováním n – použití imerzního oleje RS

Další optické charakteristiky



Optická charakteristika	Zvětšení	Numerická apertura	Pracovní vzdálenost [mm]	Tloušťka krycího sklíčka [mm]	Rozlišení [μm]	Okulár			Poznámka
						10X (ČP20)			
						Celkové zvětšení	Hloubka ostrosti [μm]	Zorné pole	
Plan C	4X	0,10	22,00	-	3,36	40X	175,00	5,0	(přídavný)
Plan Achromat (ČP 22)	10X	0,25	10,50	-	1,34	100X	28,00	2,0	
	40X	0,65	0,56	0,17	0,52	400X	3,04	0,5	
	100X	11,25	0,13	-	0,27	1000X	0,69	0,2	

Objektivy: imerzní pozorování

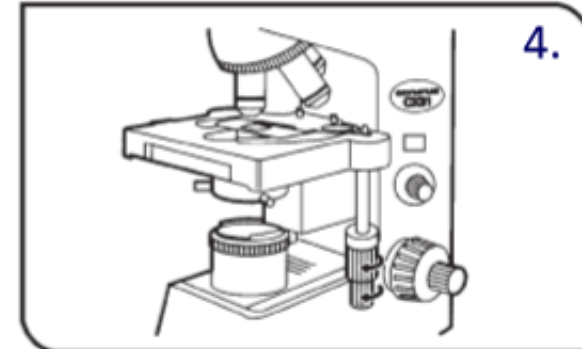
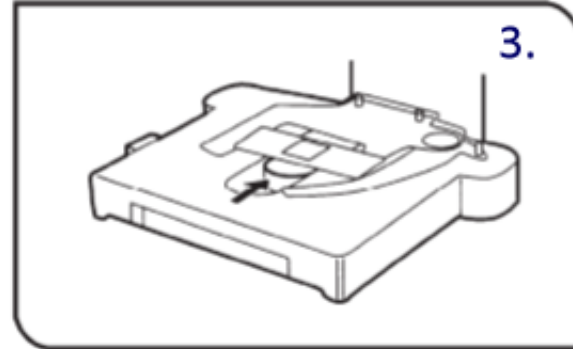
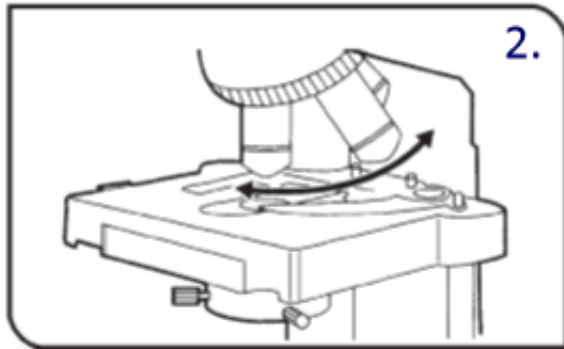
- 4x • 10x • 40x • 100x* (imerzní)
- * Imerzní tekutina se kápne (1 kapka) na krycí sklíčko preparátu a objektiv se omočí v této kapce
- v průběhu mikroskopování musí být objektiv stále spojen imerzní tekutinou s krycím sklíčkem
- po ukončení mikroskopování se musí objektiv očistit! – ether + alkohol (7:3)
- Imerzní objektivy mají na svém povrchu vyznačeny zkratky imerzních tekutin, které se smí používat.
- Imerzní tekutina se nesmí používat s objektivy, které nejsou imerzní!!!

Slovníček pojmů

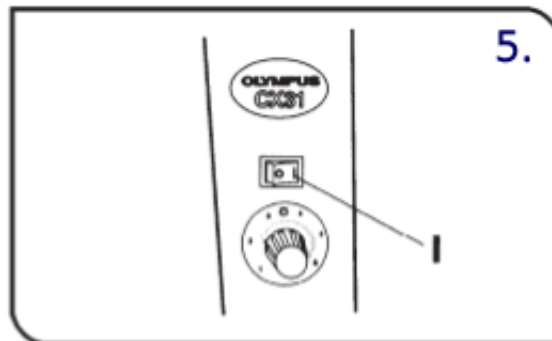
Pracovní vzdálenost:	Vzdálenost mezi preparátem a nejnižším bodem objektivu.
Numerická apertura:	Numerická apertura je číselná hodnota, kterou lze přirovnat k relativní apertuře (číslu f) objektivů fotoaparátů. S rostoucí numerickou aperturou roste i rozlišovací schopnost objektivu.
Rozlišovací schopnost:	Schopnost rozlišit dva body, tzn. že vyjadřuje minimální vzdálenost dvou objektů tak, aby byly vnímány jako dva jednotlivé objekty.
Hloubka ostrosti:	Hloubka obrazu, v níž bude zaostřený obraz rovnoměrně ostrý. Hloubka ostrosti se zvětšuje se zavíráním aperturní clony. S rostoucí numerickou aperturou objektivu hloubka ostrosti klesá.
Číslo pole:	Číselná hodnota, která ovlivňuje velikost zorného pole.
Průměr zorného pole:	Skutečný průměr pozorovaného pole v milimetrech.
Celkové zvětšení:	Součin zvětšení objektivu a zvětšení okuláru.

POSTUP PŘI POZOROVÁNÍ VE SVĚTLÉM POLI I.

1. Zkontrolujeme čistotu všech optických částí mikroskopu.
2. Do světelné dráhy zařadíme objektiv s nejmenším zvětšením (4x).



3. Prohlédneme preparát, umístíme jej na stolek, krycím sklem vzhůru.
4. Otáčením koleček posuvu v osách x a y posuneme preparát do světelné dráhy.

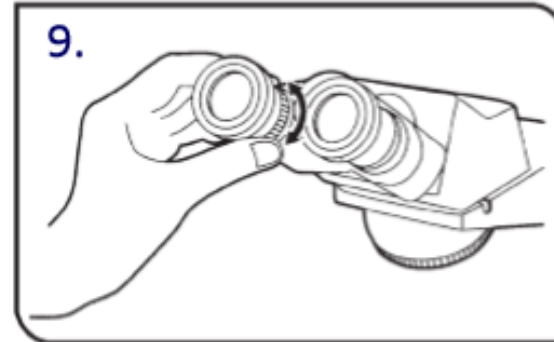
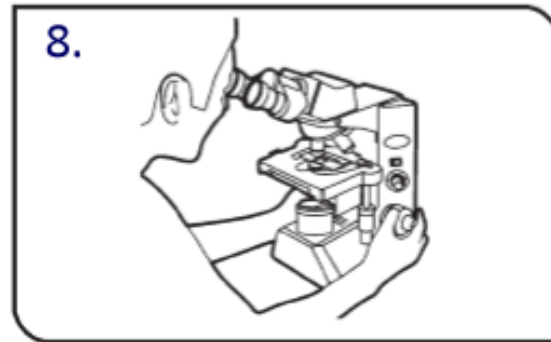


5. Přepneme hlavní vypínač do polohy „I“ (zapnuto) a nastavíme jas kolečkem na ovládání intenzity světla.

POSTUP PŘI POZOROVÁNÍ VE SVĚTLÉM POLI II.

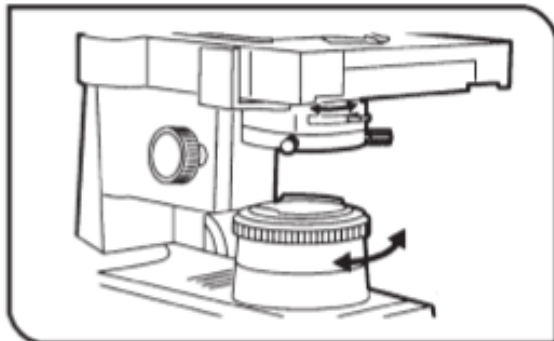
6. Makrošroubem umístíme stoleček s preparátem do nejvyšší polohy.

7. Nastavíme vhodnou vzdálenost (rozteč) okulárů na vlastní oči – až se nám obraz spojí.



8. Otáčením šrouby makro a mikroposuvu zaostříme na preparát.

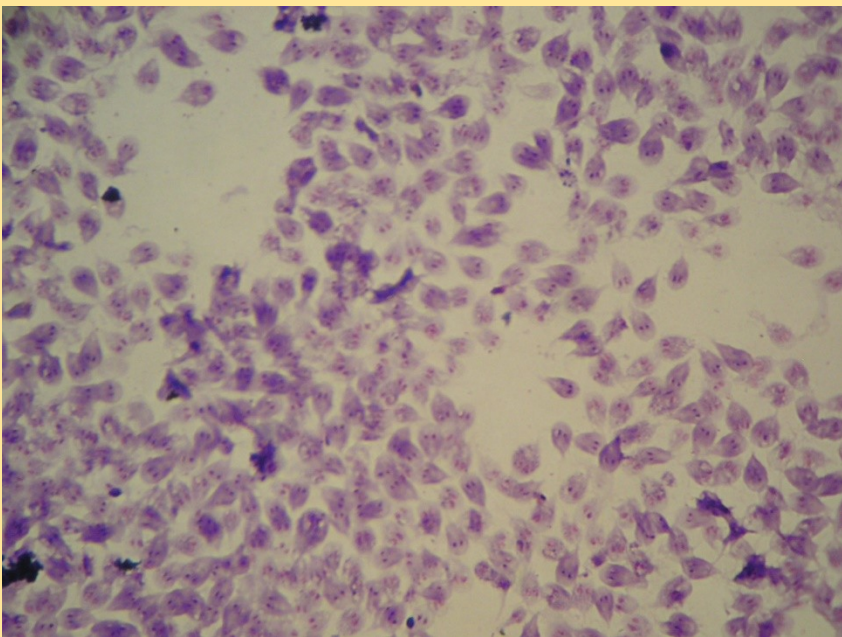
9. Lze nastavit dioptrickou korekci na levém okuláru.



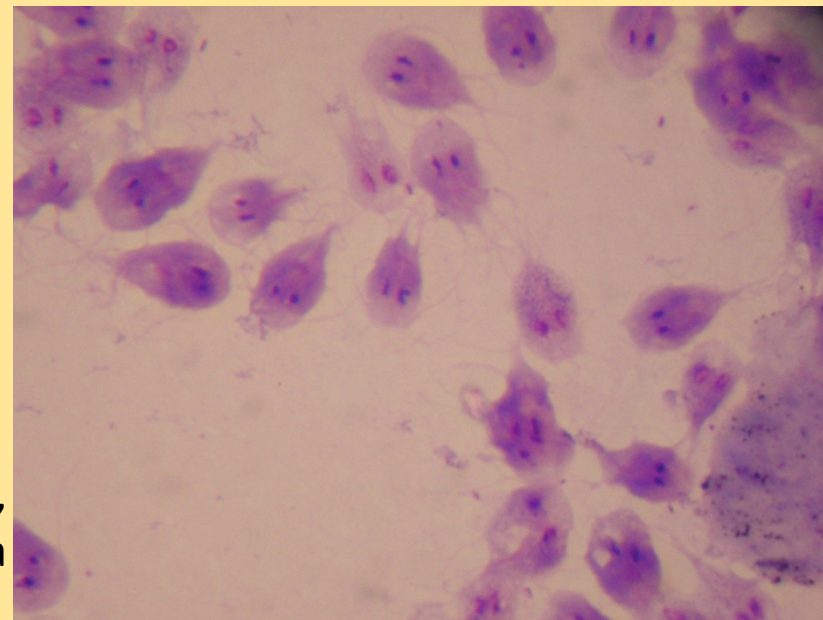
10. Aperturní (hodnota: 70-80% NA) a polní clonou lze regulovat množství světla.

Zásada!

Postupujeme od celkového obrazu k detailům.

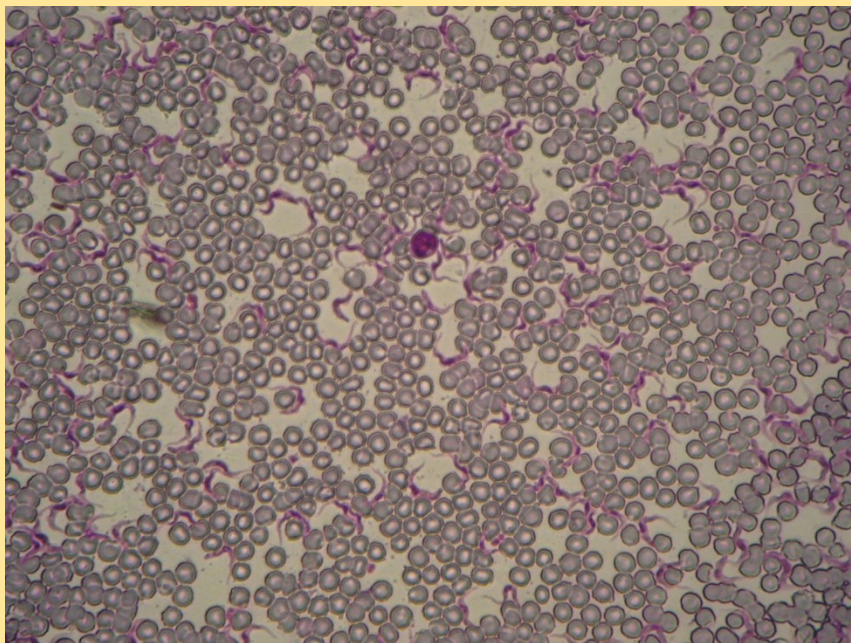


Lambliia stře vni



Lambliia stře vni

Phylum: [Sarcoma](#)
[stigopho](#)
[ra](#)
bezbrví,
bičíkovci,
flagellata

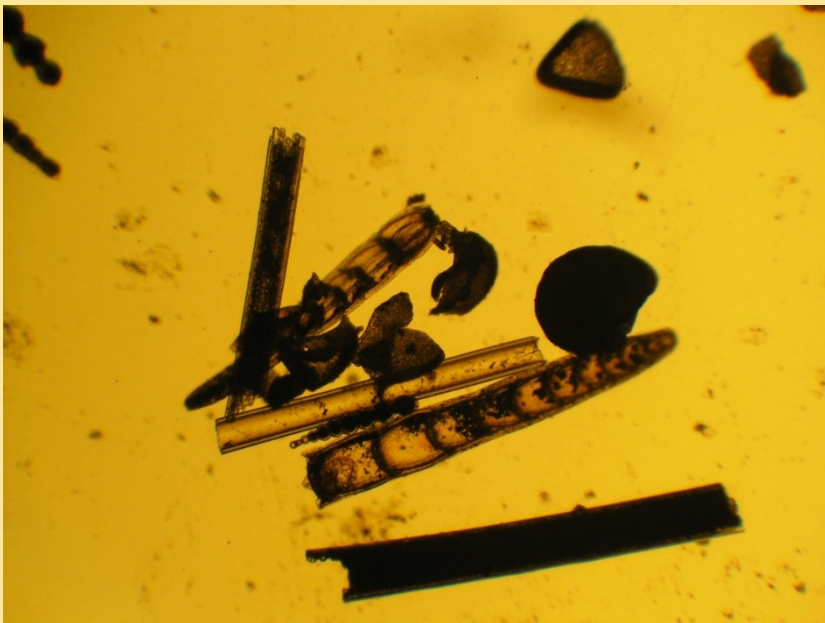


Trypanosoma spavičná



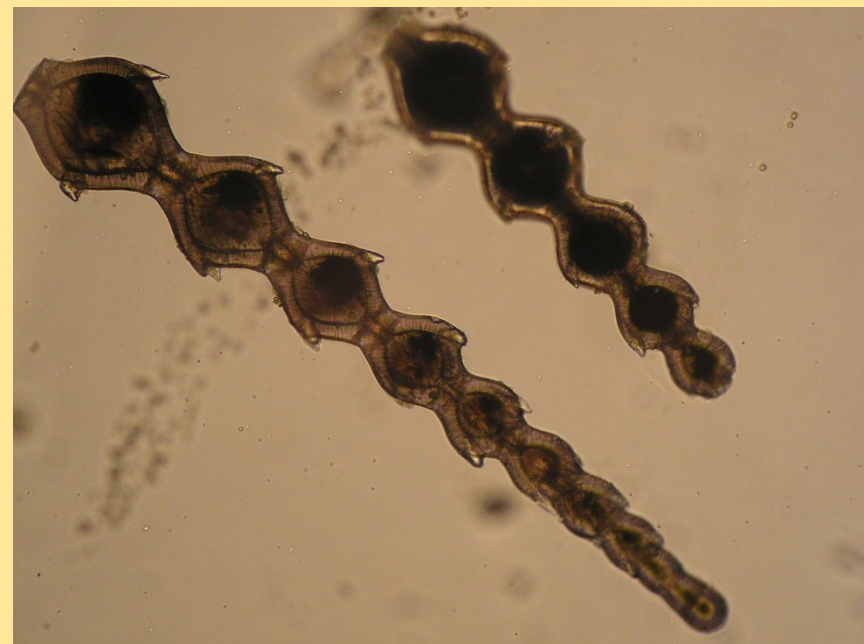
Trypanosoma ptačí v klíštěti

[Kmen](#)
[Euglen](#)
[ozoa](#)
(krásno
očka)

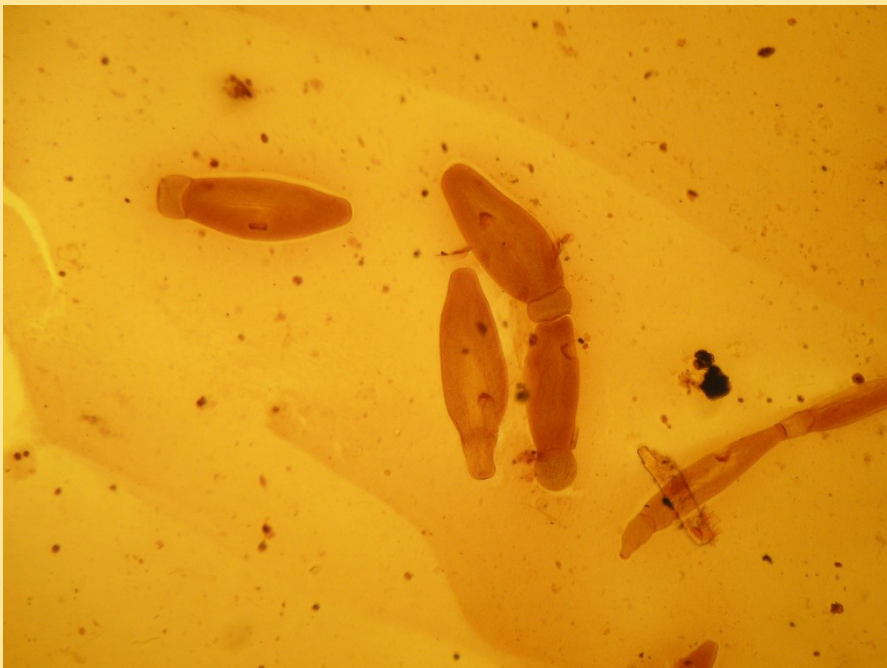


dírkonozci

kmen: Rhizopoda
(KOŘENONOŽCI)

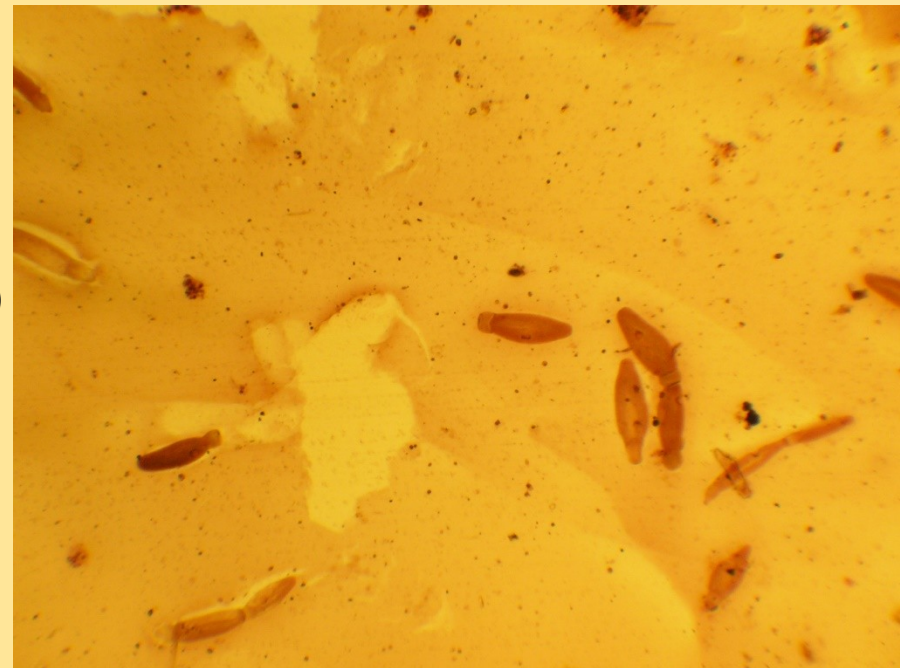


dírkonozci



hromadinky

kmen: Sporozoa,
Apicomplexa
(VÝTRUSOVCI)



hromadinky