

Základy mikroskopování

Většina objektů, které nás budou zajímat, je příliš drobná na to, abychom je mohli pozorovat pouhým okem. Proto je nemůžeme studovat na místě v terénu, po sebrání je musíme přenést do učebny nebo laboratoře a teprve za použití odpovídající techniky je můžeme pozorovat.

Co je mikroskop

Mikroskop je přístroj, který umožňuje pozorování předmětů pouhým okem nerozlišitelných. Skládá se ze dvou soustav čoček – okuláru (soustava blíže k oku pozorovatele) a objektivu (soustava blíže pozorovanému předmětu). Podle počtu okulárů rozlišujeme mikroskopy monokulární (s jedním okulárem, objekty pozorujeme jedním okem) a binokulární (se dvěma okuláry, objekty pozorujeme oběma očima). Součástí optické soustavy může být i kamera nebo fotoaparát k pořízení záznamu pozorovaného objektu (někdy hovoříme o trinokulárním mikroskopu). Okulár a objektiv jsou odděleny tubusem, který mezi nimi udržuje konstantní vzdálenost. Objektiv i okulár jsou vyměnitelné.

Pod tubusem je umístěn křížový stolek s otvorem, kterým prochází světlo z osvětlovací části mikroskopu. Na stolku jsou svorky pro umístění pozorovaného preparátu. Mechanismus křížového posunu umožňuje pohyb stolku a zároveň i preparátu ve dvou kolmých směrech. Novější mikroskopy mají pod stolkem umístěný ještě posuvný kondenzor, což je soustava čoček, které soustředí světelné paprsky do jedné roviny s pozorovaným předmětem. Součástí kondenzoru jsou i filtry, které zlepšují možnosti pozorování (např. změnou hloubky ostrosti pozorovaného předmětu).

K zaostření pozorovaného předmětu slouží makrometrický šroub umístěný po stranách nohy mikroskopu, k jemnému doostření struktury pozorovaných objektů pak slouží mikrometrický šroub opatřený stupnicí.

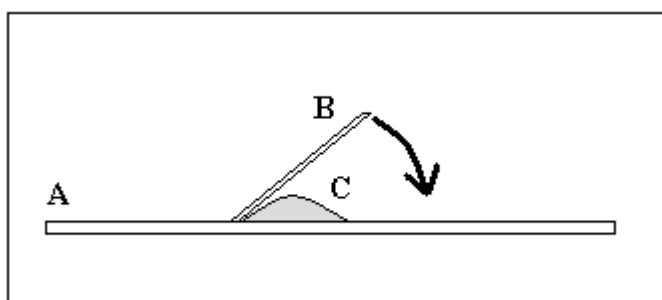
Příprava nativního preparátu

Nejjednodušším způsobem, jak si námi zvolený objekt prohlédnout je výroba tzv. nativního preparátu. Kromě předmětu, který chceme pozorovat, potřebujeme ještě podložní a krycí sklo, kapátko a pinzetu.

Na podložní sklo kápneme kapku vody, do ní pinzetou přeneseme předmět, který chceme pozorovat. Pokud jde o velmi drobné organismy (např. rozsivky), které pouhým okem

nevidíme, nabere kapátkem přímo vodu ze vzorku, ve kterém předpokládáme výskyt těchto organismů. Vše přikryjeme krycím sklíčkem a to tak, že nejprve přiložíme jeho hranu k okraji kapky a poté sklopíme přes celou kapku (obr. 1). Minimalizujeme tak vznik vzduchových bublin, které se v mikroskopu jeví jako černé kruhy a zhoršují pozorovaný obraz.

Nevýhodou nativního preparátu je jeho malá trvanlivost, dochází k postupnému vysychání a objekty přestávají být během několika desítek minut pozorovatelné. Chceme-li pozorované organismy v preparátu dlouhodobě uchovat, musíme vytvořit tzv. trvalý preparát, který vydrží v nezměněném stavu i desítky let. Výroba takového preparátu však již přesahuje rámeček tohoto textu.



A – podložní sklo

B – krycí sklo

C – kapka vody s pozorovaným
objektem

Obr. 1. Zhotovení nativního preparátu

Postup vlastního mikroskopování

Transport mikroskopu. Nejprve musíme mikroskop umístit na pracovní plochu. S mikroskopem vždy manipulujeme opatrně, držíme jej oběma rukama na určených místech, nikdy ne za pohyblivé části.

Uvedení do provozu. Před zapnutím mikroskopu se přesvědčíme, že otočný potenciometr, který reguluje napětí přiváděné k žárovce, je nastaven na minimální hodnotu. Teprve potom světlo zapneme. Tímto opatřením prodlužujeme životnost světelného zdroje a chráníme svůj zrak. Následně nastavíme intenzitu světla podle potřeby.

Umístění preparátu, ostření, změna zvětšení. Poté umístíme na stolek preparát a upevníme jej svorkami. Pomocí křížového posunu přesuneme pozorovaný objekt doprostřed stolku. Ostřit začínáme od objektivu s nejmenším zvětšením (obvykle 4x nebo 10x). Nejprve snížíme tubus pomocí makrometrického šroubu do nejnižší polohy. V této fázi se nikdy nedíváme do okuláru, pozorujeme optickou soustavu z boku a kontrolujeme vzdálenost mezi objektivem a preparátem, zamezíme tak případnému proražení preparátu a poškození čočky objektivu. To hrozí pouze u objektivů pro větší zvětšení, je však dobré si tento postup

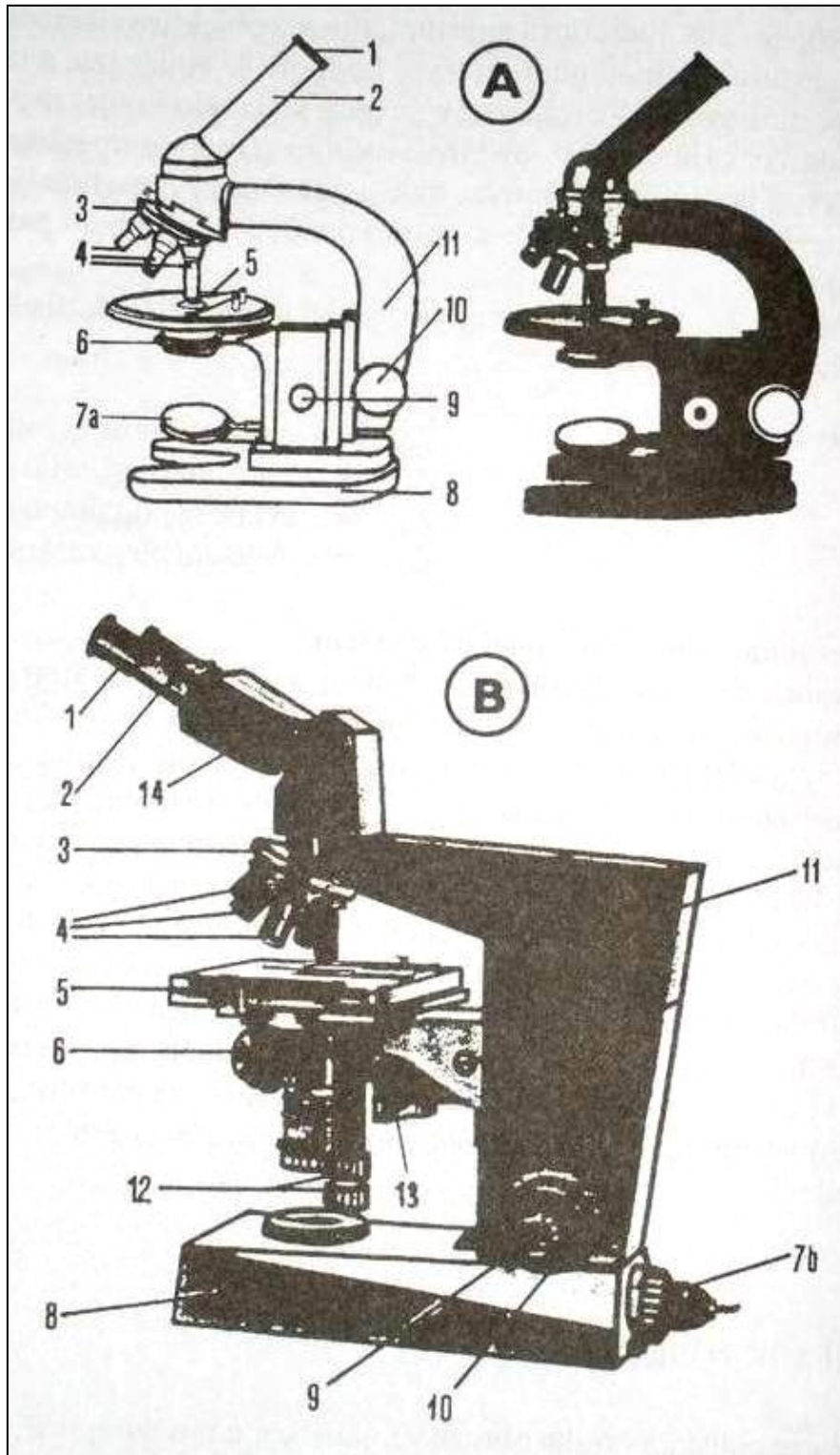
zautomatizovat a ostřit makrometrickým šroubem vždy směrem od preparátu. Nejprve ostříme „nahrubo“ makrometrickým šroubem, poté, co uvidíme pozorovaný objekt, doostříme jemně mikrometrickým šroubem. Pokud je pozorovaný objekt příliš drobný, můžeme přejít k většímu zvětšení otočením bajonetového nosiče objektivů. Poté je vždy nutné zvýšit intenzitu světla a opět jemně doostřit. Pozorovaný objekt vždy pečlivě zakreslíme, popíšeme a uvedeme, při jakém zvětšení jsme jej pozorovali. Zvětšení jednoduše zjistíme z popisu na boční straně objektivu i okuláru, hodnoty vzájemně vynásobíme a zapíšeme buď ve formě násobku (zvětšení 10x40) nebo výsledku (zvětšeno 400x).

Vzdálenost okulárů, dioptrická korekce. Máme-li binokulární mikroskop, věnujeme pozornost vzdálenosti okulárů. Optiku přizpůsobíme našim potřebám tak, že zaostřený preparát pozorujeme oběma očima a zároveň měníme vzdálenost okulárů, až se dílčí obrazy pozorované jednotlivými okuláry spojí v jeden celistvý kruhový obraz. Binokulární mikroskop má dále možnost tzv. dioptrické korekce, která pomáhá vyrovnat případnou dioptrickou vadu našich očí (máme-li na každém oku jiný počet dioptrií). Preparát pozorujeme pouze pravým okem, najdeme nějaký výrazný bod a ten zaostříme. Poté pozorujeme tentýž bod levým okem (bez předchozího přeostrění optické soustavy). Doostření provedeme otáčením prstencem pod levým okulárem. Těmto činnostem je potřeba věnovat velkou pozornost, špatně nastavený mikroskop má nejen horší optické vlastnosti, ale také nám může způsobit bolest hlavy, nevolnost, případně i poškození zraku.

Kondenzor, nastavení clony. Pro jednoduchá pozorování není nutné se nastavením těchto položek zabývat, kondenzor umístíme vždy do nejnižší polohy (co nejbližší zdroji světla), clonu necháme maximálně otevřenou.

Ukončení práce. Po skončení práce s mikroskopem otočíme potenciometr na minimální napětí, vypneme světlo, vypojíme mikroskop ze zásuvky. Mikroskop vždy zakryjeme obalem (v nouzi igelitovým sáčkem), abychom jej chránili před prachem. Čočky okuláru a objektivu čistíme roztokem etanolu a éteru v poměru 3:7. Optické soustavy nikdy nerozebíráme a veškeré opravy svěříme pouze autorizovanému servisu.

SLOŽENÍ MIKROSKOPU



1. - okulár, 2. - tubus, 3. - revolverová hlavice, 4. - objektivy, 5. - stolek s pružinami (mikroskop A) a křížovým vodičem preparátu, 6. - kondenzor, 7a - osvětlovací zrcátko, 7.b - el. osvětlení s halogenovou žárovkou, 8. - noha stativu, 9. - mikrošroub, 10. - makrošroub, 11. - rameno stativu, 12. - ovládací šrouby křížového vodiče, 13. - ovládací šroub kondenzoru, 14. - binokulární zařízení.