

# 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. 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. Náhrada st. svátku?

- Protokoly uznané vyučujícím
- Závěrečné poznávání preparátů

# Protokoly:

Na nelinkované listy A4, v záhlaví protokolu z jednotlivých cvičení uvést jméno, skupinu (např. čt 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, tabulka se základními pojmy (numerická apertura, rozlišovací schopnost, hloubka ostrosti, pracovní vzdálenost, zvětšení užitečné a prázdné...)

Postup přípravy histologického řezu - ne

Postup při mikroskopování - ne

Postup práce s imerzí - ano

Nákres (s popisky!) a zvětšení pozorovaného preparátu

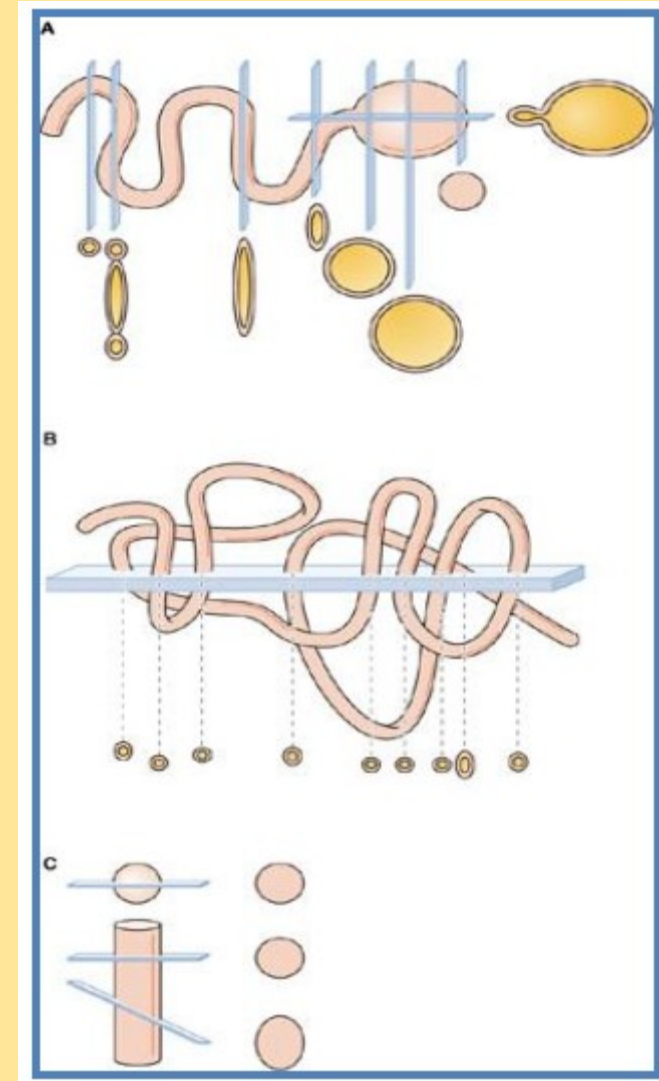
# HISTOLOGICKÉ METODY

- 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.

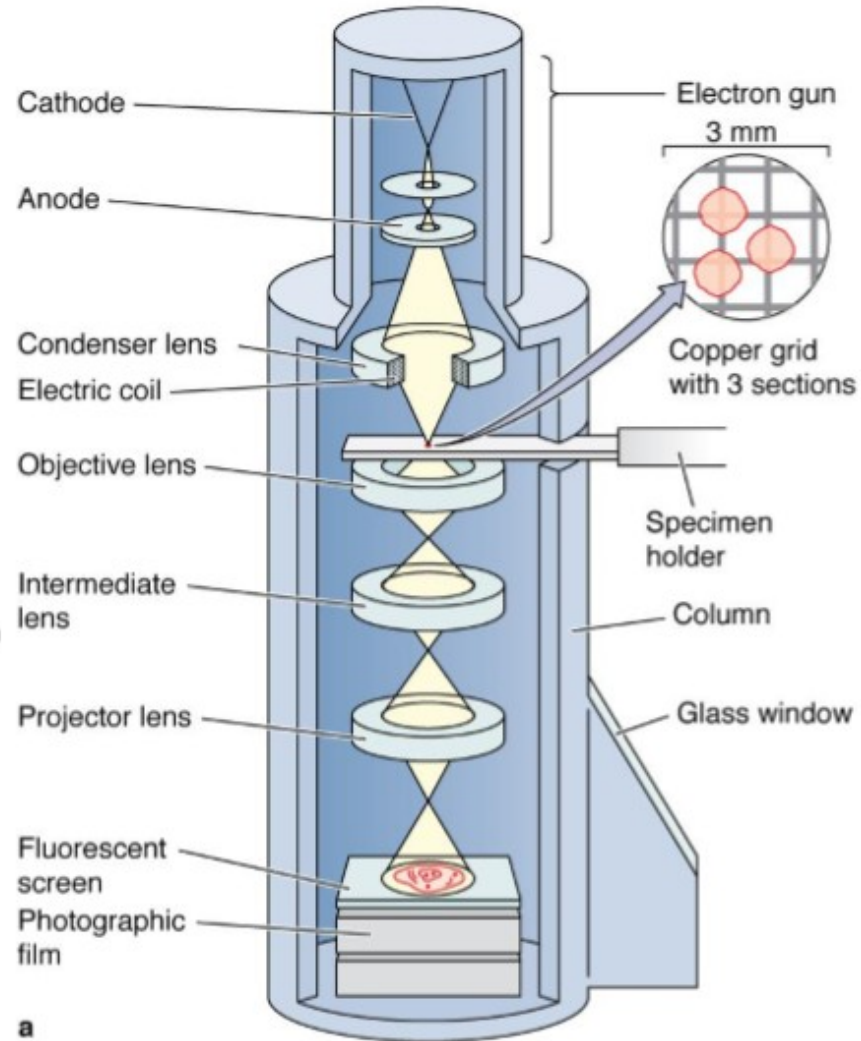
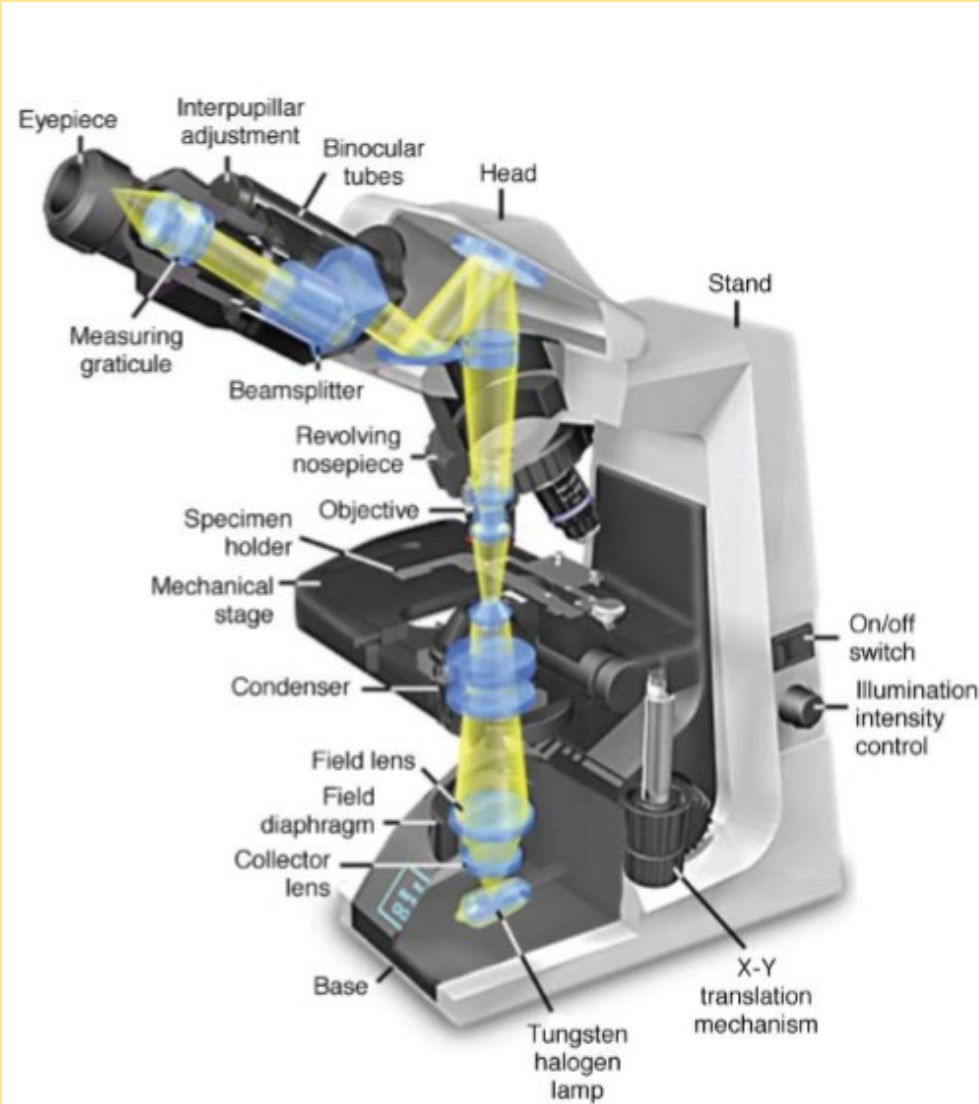
- ! Omezení → artefakty
- Řezy → ! 2D představa 3D struktur → série řezů (rekonstrukce)



# ZPRACOVÁNÍ TKÁNÍ PRO MIKROSKOPII

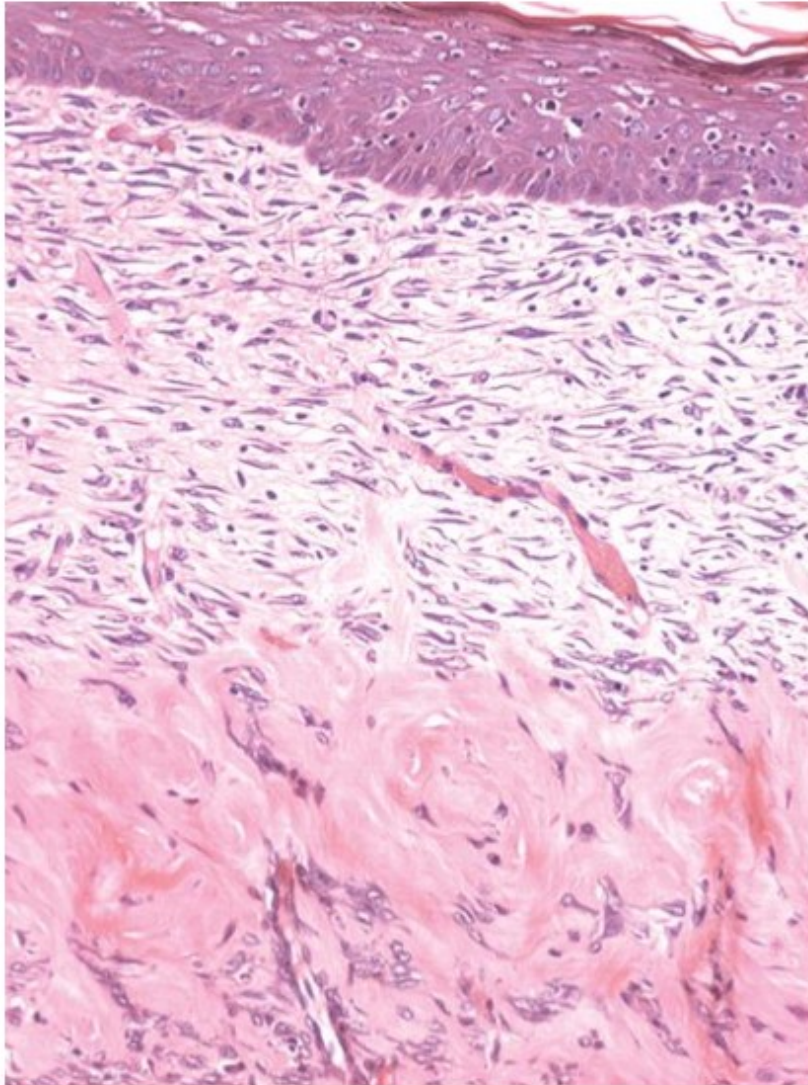
- SM • Fixace (chem., fyz.) • Odvodnění (ethanol) • Projasnění (xylen) • Prosycení (xylen/parafin) • Zalití (parafín) • Krájení (mikrotom) • Montování (na podlož. sklo) • Odparafinování • Rehydratace • Barvení • Odvodnění • Xylen • Kanadský balzám • Světelná mikroskopie
- EM • Fixace (chem., fyz.) • 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)

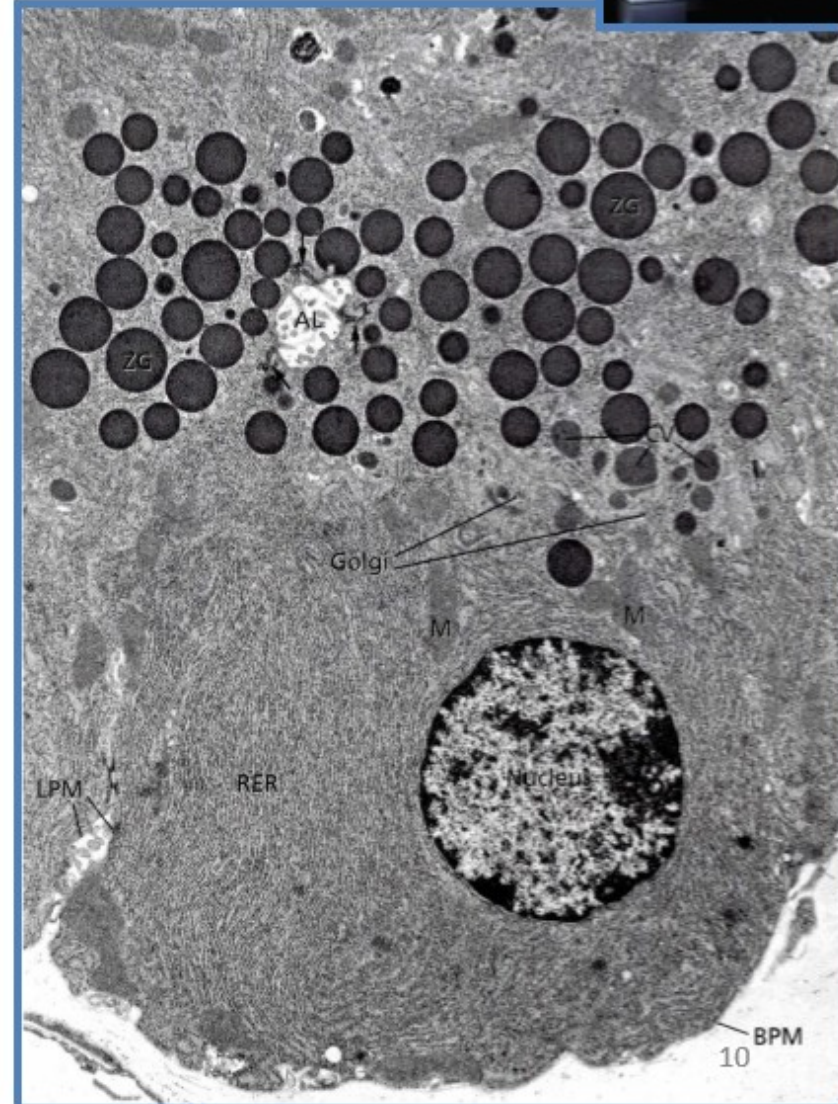




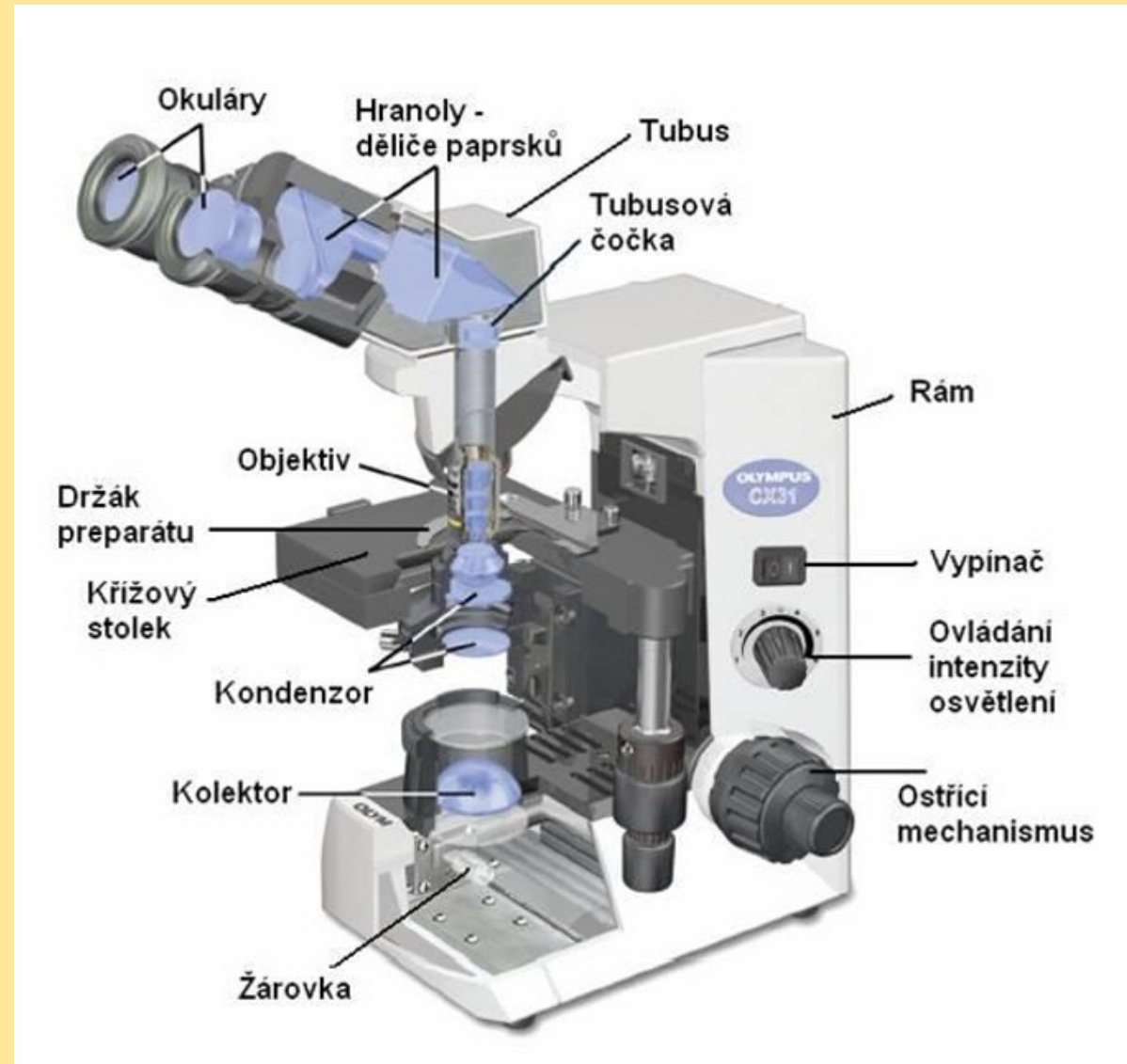
Světelný mikroskop



Elektronový mikroskop

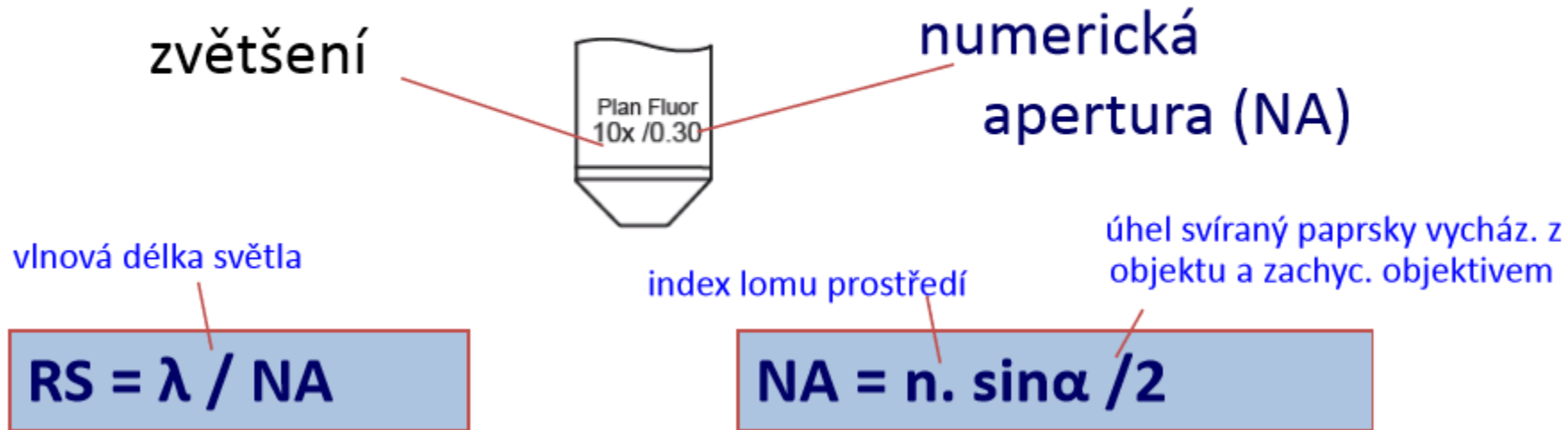


# Stavba mikroskopu



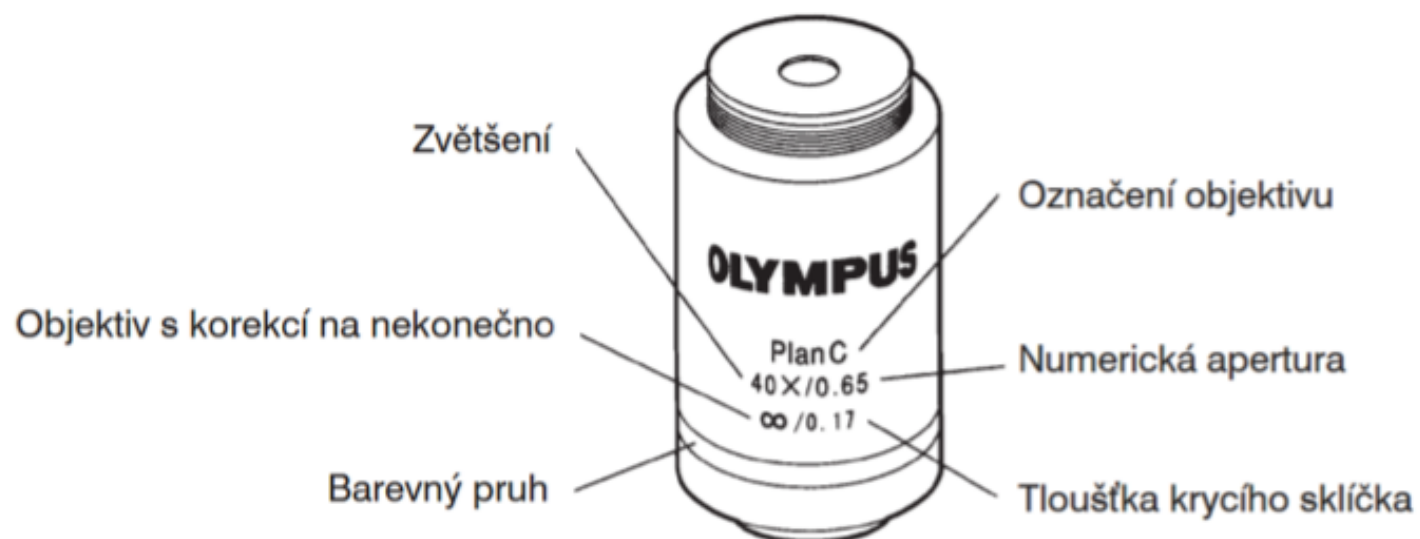


# Objektiv – zajišťuje zvětšení a rozlišení



- 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  $\lambda$  – 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 [ $\mu\text{m}$ ]	Okulár			Poznámka
						10X (ČP20)			
						Celkové zvětšení	Hloubka ostrosti [ $\mu\text{m}$ ]	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

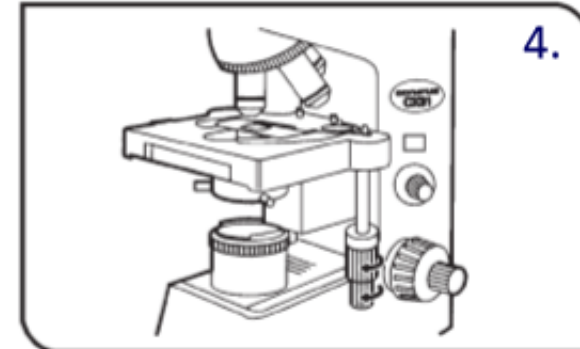
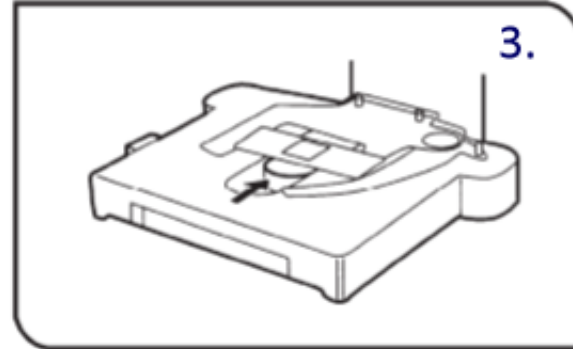
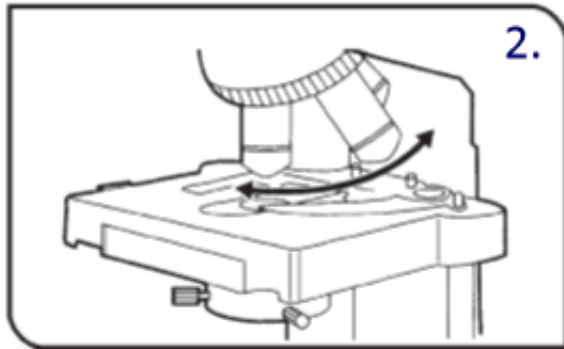
- 4x • 10x • 40x • 100x\* (imerzní)
- \* Imerzní tekutina se kápne (1 kapka) na krycí sklíčko preparátu a objektiv se omočí v této kapce
- v průběhu mikroskopování musí být objektiv stále spojen imerzní tekutinou s krycím sklíčkem
- po ukončení mikroskopování se musí objektiv očistit! – ether + alkohol (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

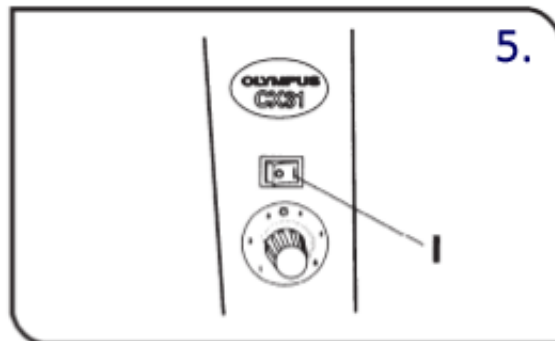
Pracovní vzdálenost:	Vzdálenost mezi preparátem a nejnižším bodem objektivu.
Numerická apertura:	Numerická apertura je číselná hodnota, kterou lze přirovnat k relativní apertuře (číslu $f$ ) objektivů fotoaparátů. S rostoucí numerickou aperturou roste i rozlišovací schopnost objektivu.
Rozlišovací schopnost:	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.

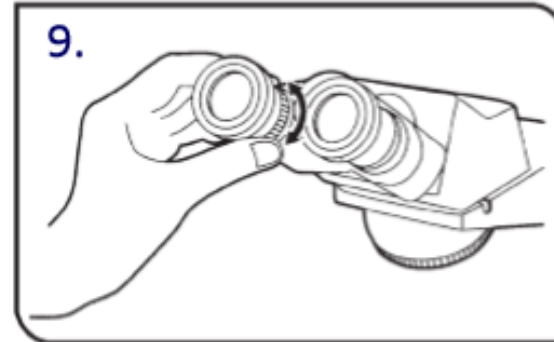
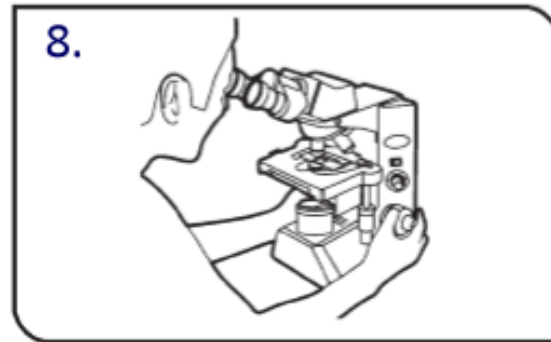


5. Přepneme hlavní vypínač do polohy „I“ (zapnuto) a nastavíme jas kolečkem na ovládání intenzity světla.

## POSTUP PŘI POZOROVÁNÍ VE SVĚTLÉM POLI II.

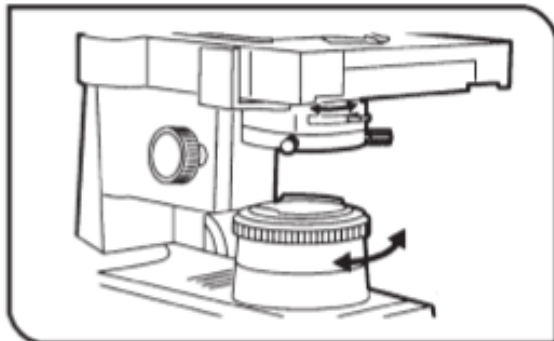
6. Makrošroubem umístíme stoleček s preparátem do nejvyšší polohy.

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



8. Otáčením šrouby makro a mikroposuvu zaostříme na preparát.

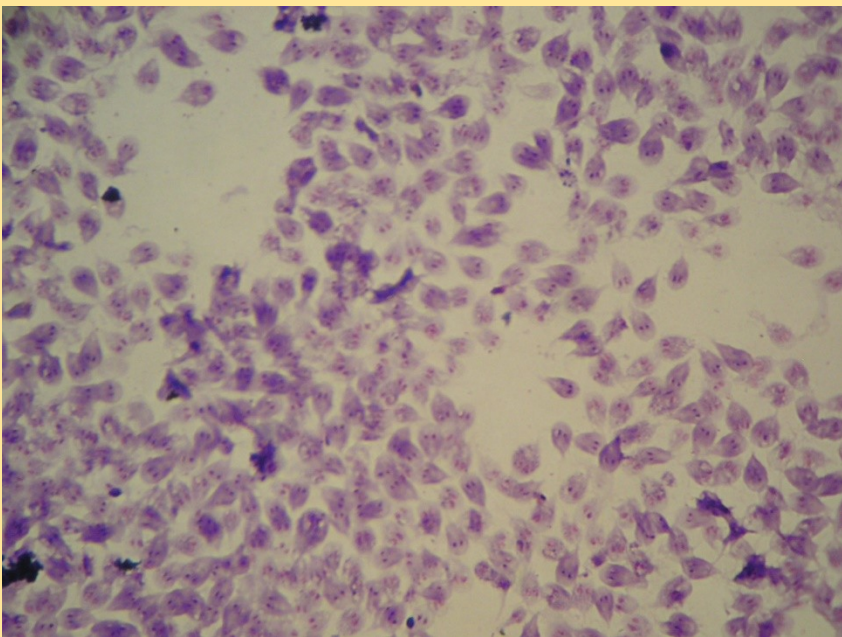
9. Lze nastavit dioptrickou korekci na levém okuláru.



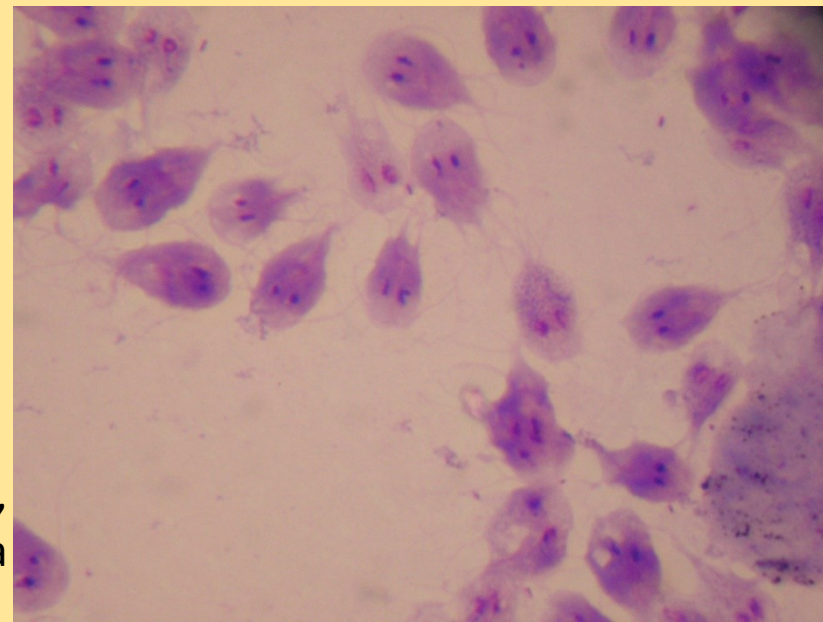
10. Aperturní (hodnota: 70-80% NA) a polní clonou lze regulovat množství světla.

**Zásada!**

**Postupujeme od celkového obrazu k detailům.**

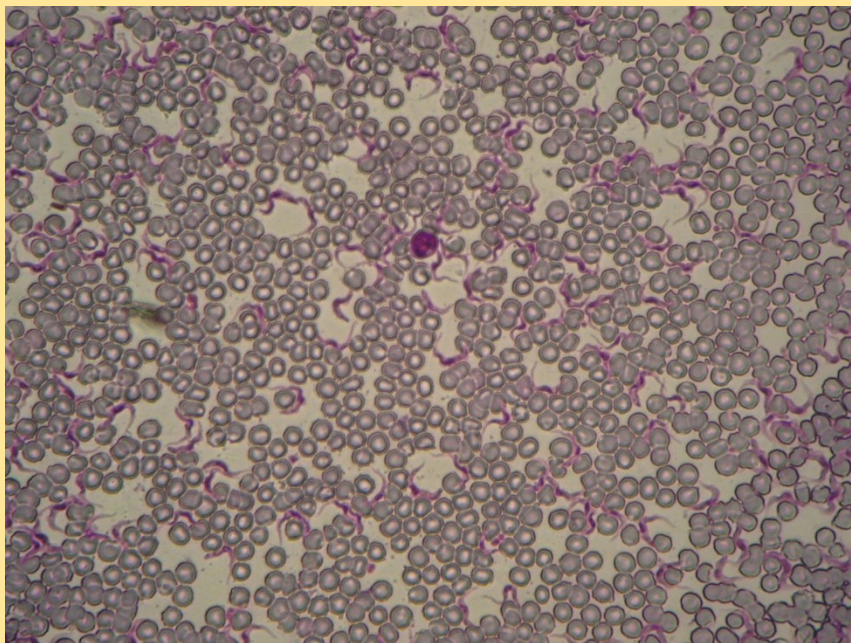


Lamblia střevni



Lamblia střevni

Phylum: Sarcoma  
stigopho  
ra  
bezbrví,  
bičíkovci,  
flagellata

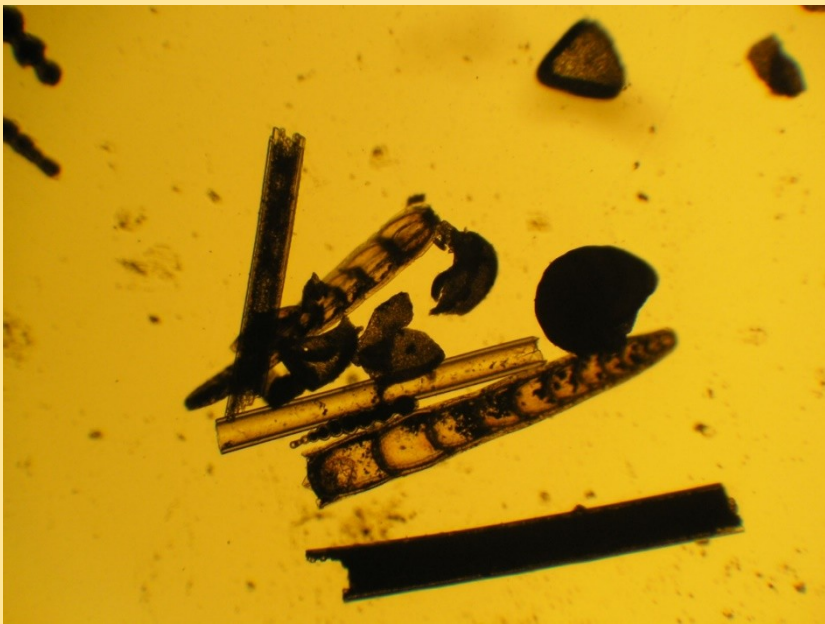


Trypanosoma spavičná



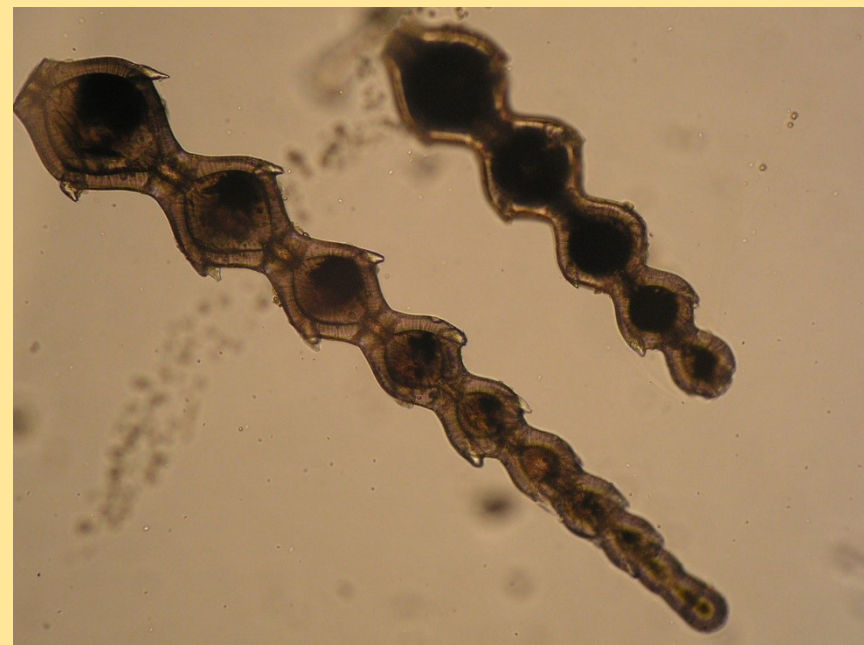
Trypanosoma ptačí v klíšťeti

Kmen  
Euglen  
ozoa  
(krásno  
očka)

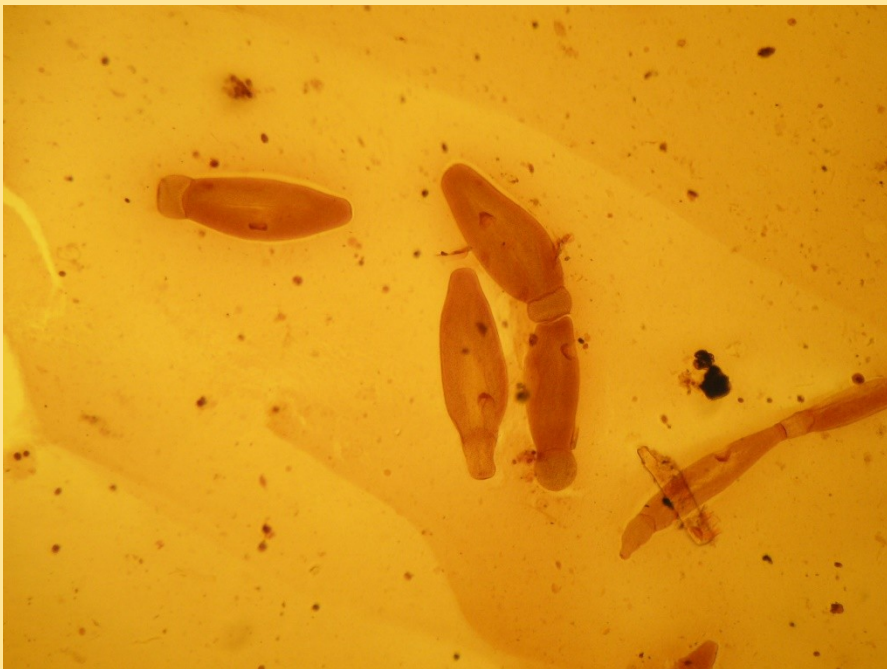


kmen: Rhizopoda  
(KOŘENONOŽCI)

dírkonozci

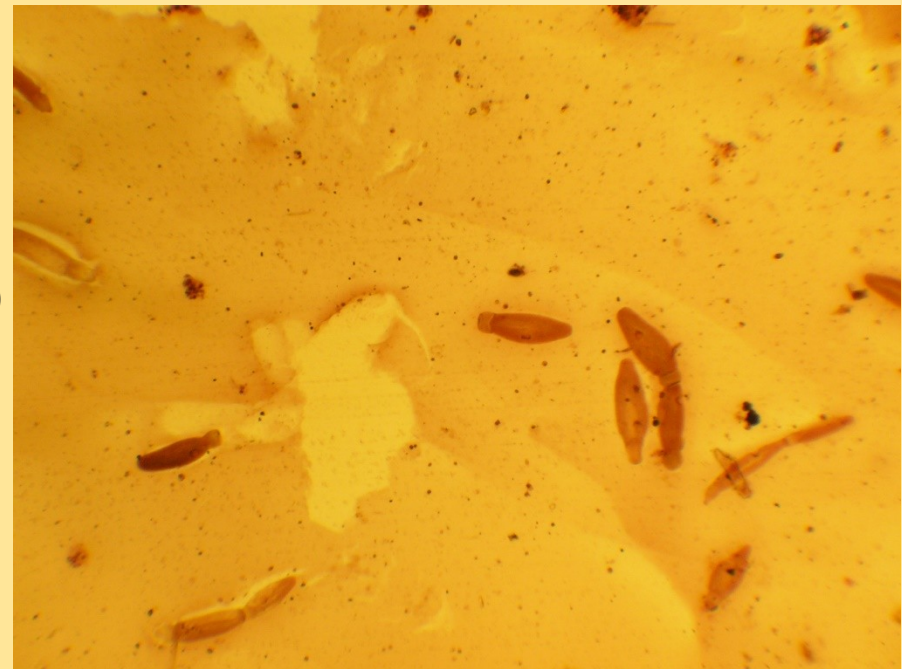


dírkonozci



kmen: Sporozoa,  
Apicomplexa  
(VÝTRUSOVCI)

hromadinky



hromadinky

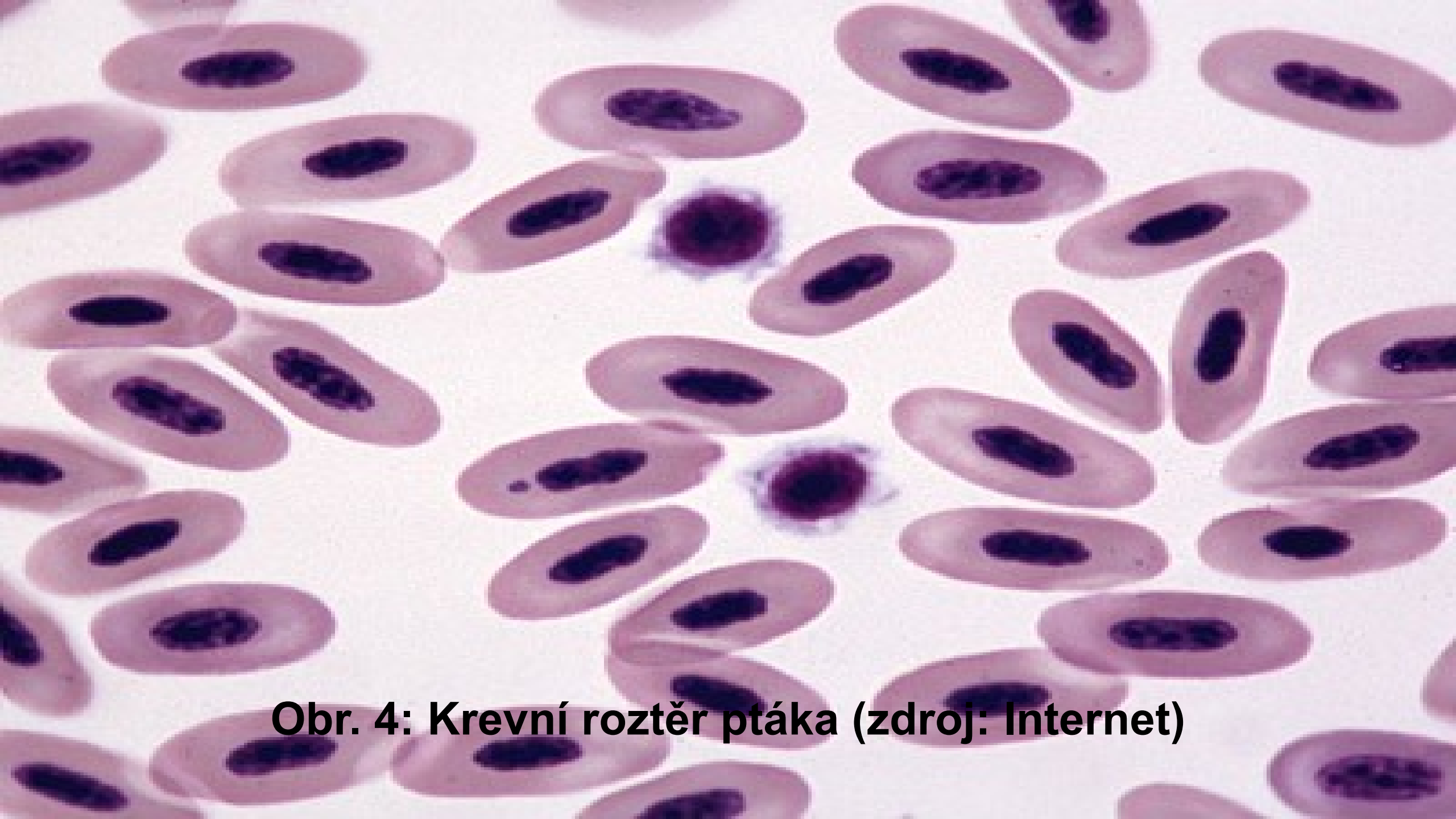




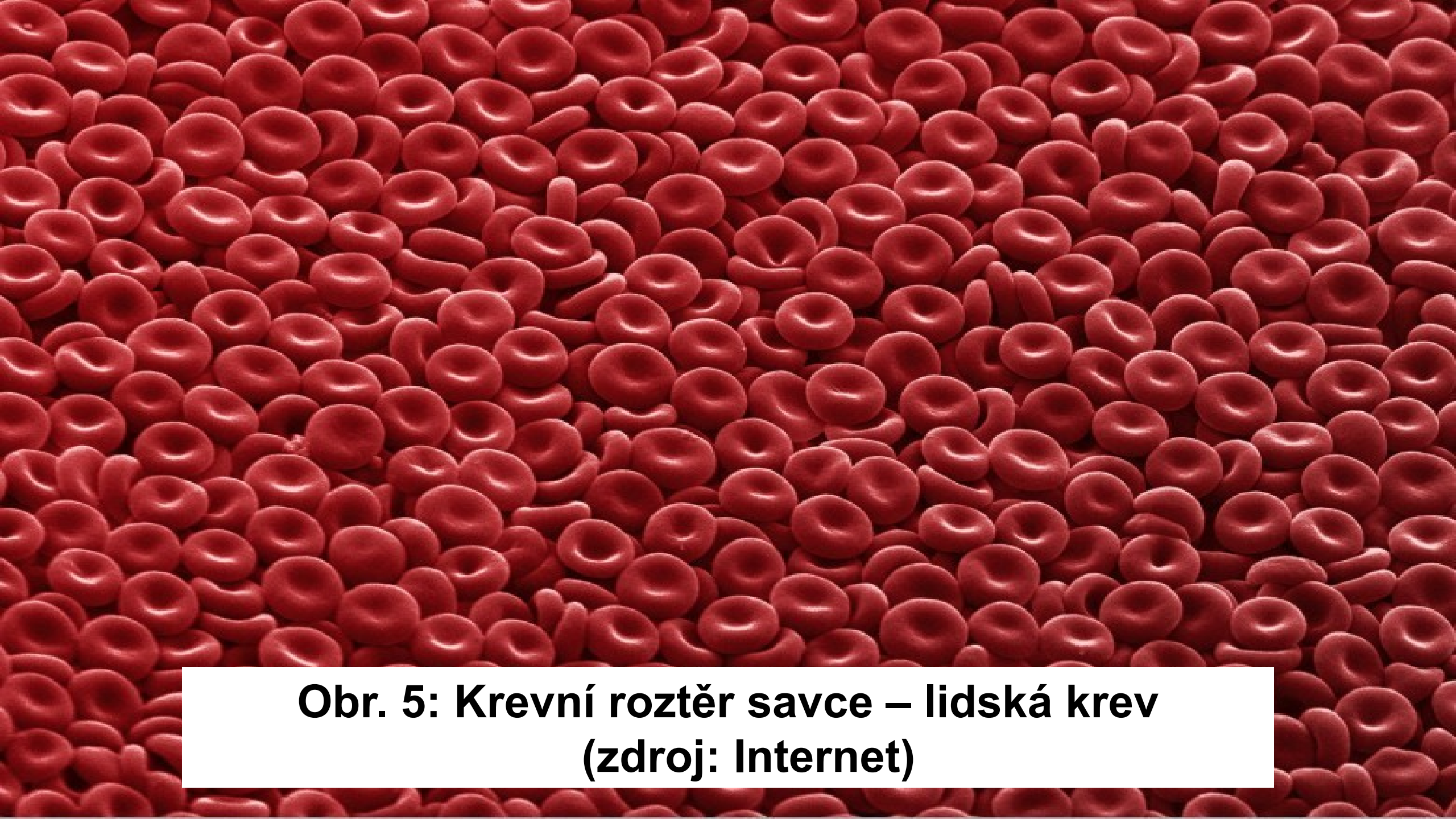
**Obr. 2: Krevní roztěr ryby (zdroj: Internet)**



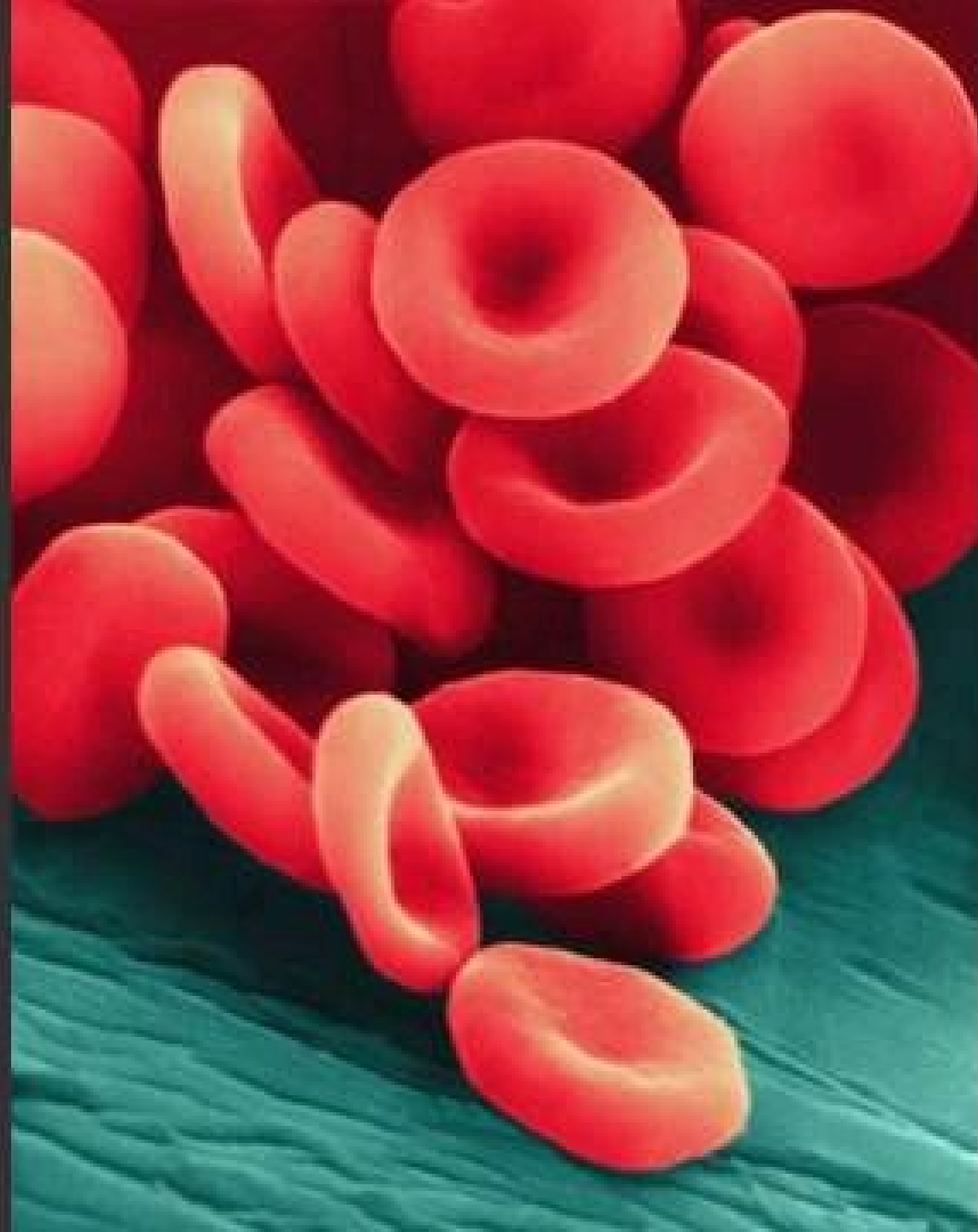
**Obr. 3: Krevní roztěr žáby (zdroj: Internet)**

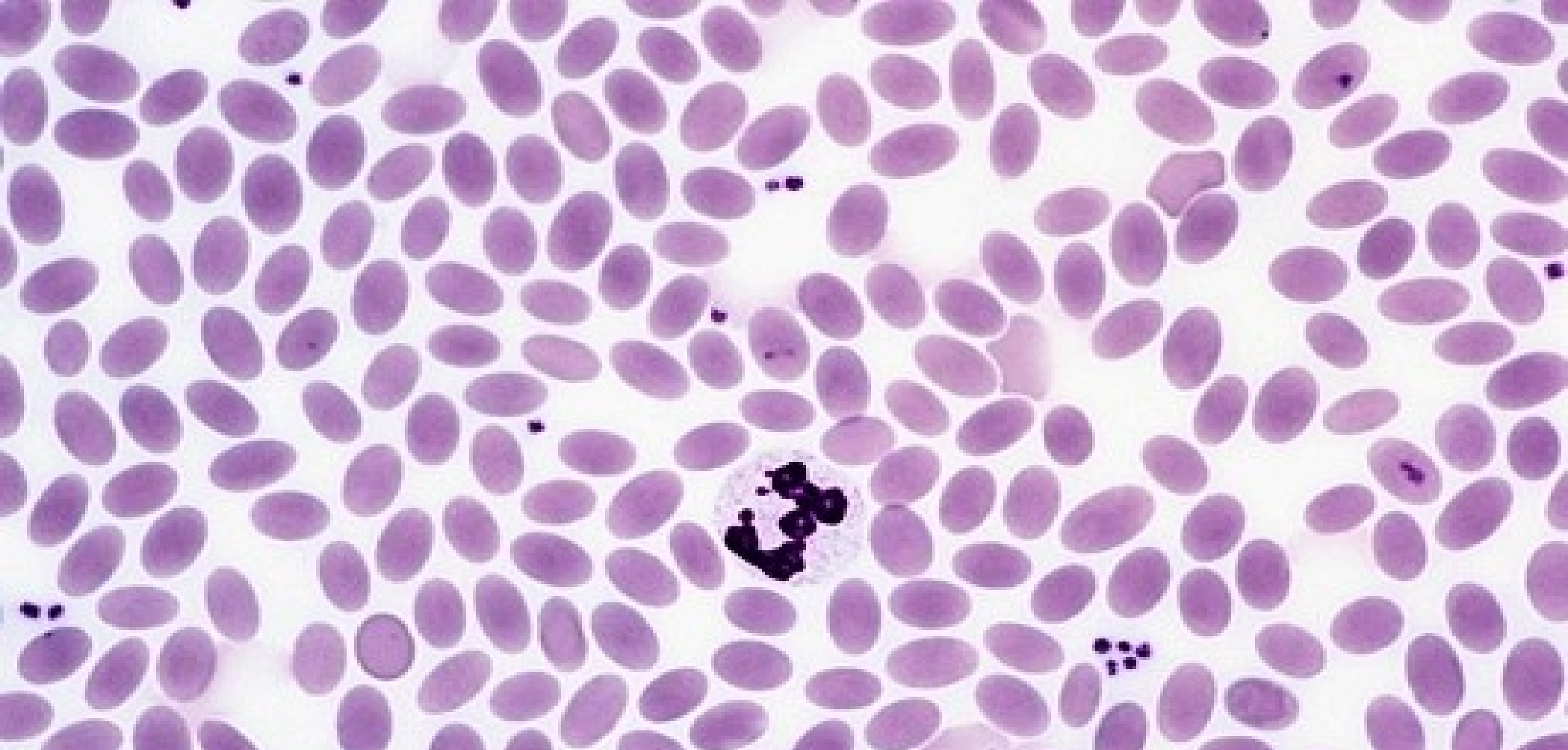


**Obr. 4: Krevní roztěr ptáka (zdroj: Internet)**



**Obr. 5: Krevní roztěr savce – lidská krev  
(zdroj: Internet)**

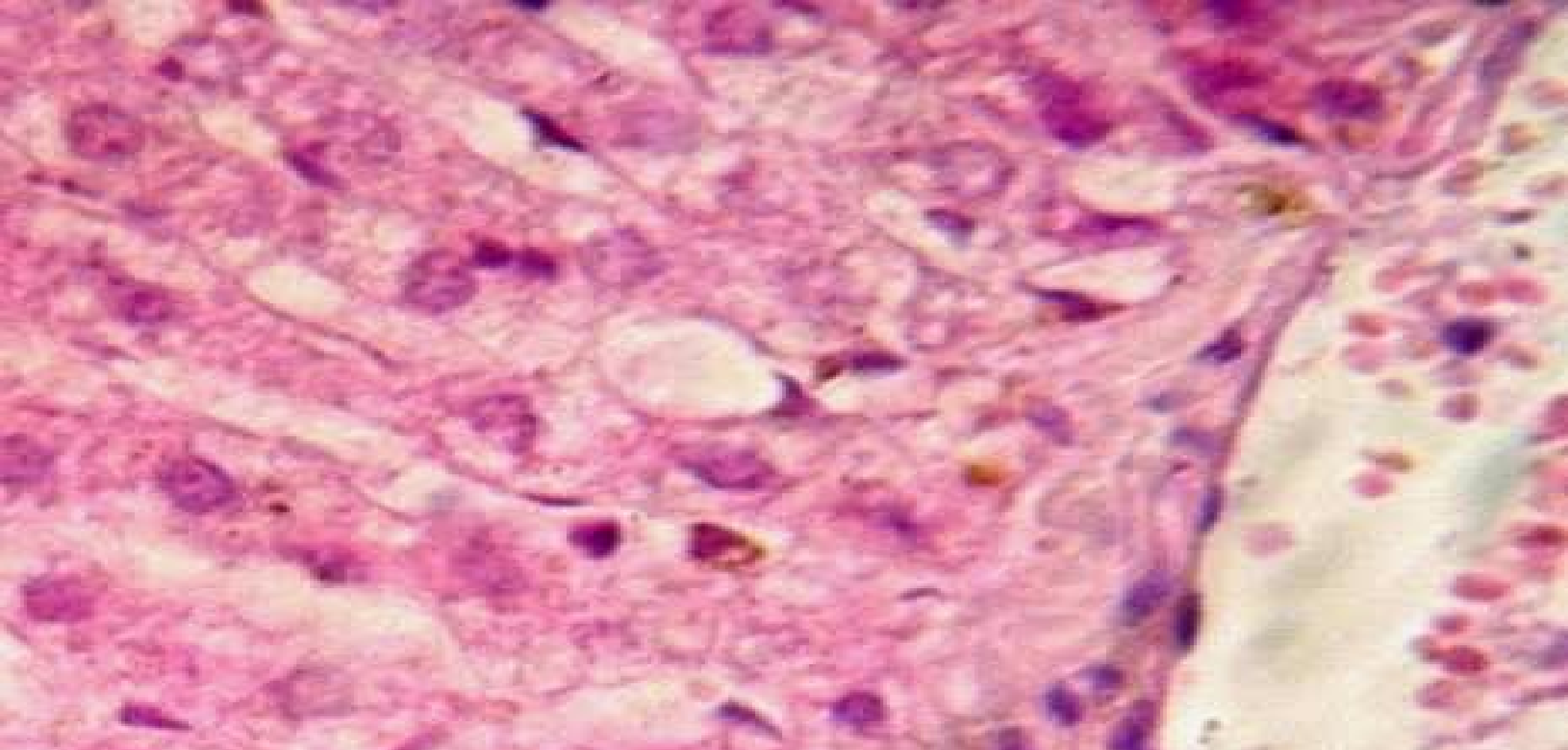




**Obr. 7: Krevní roztěr velblouda (zdroj: Internet)**

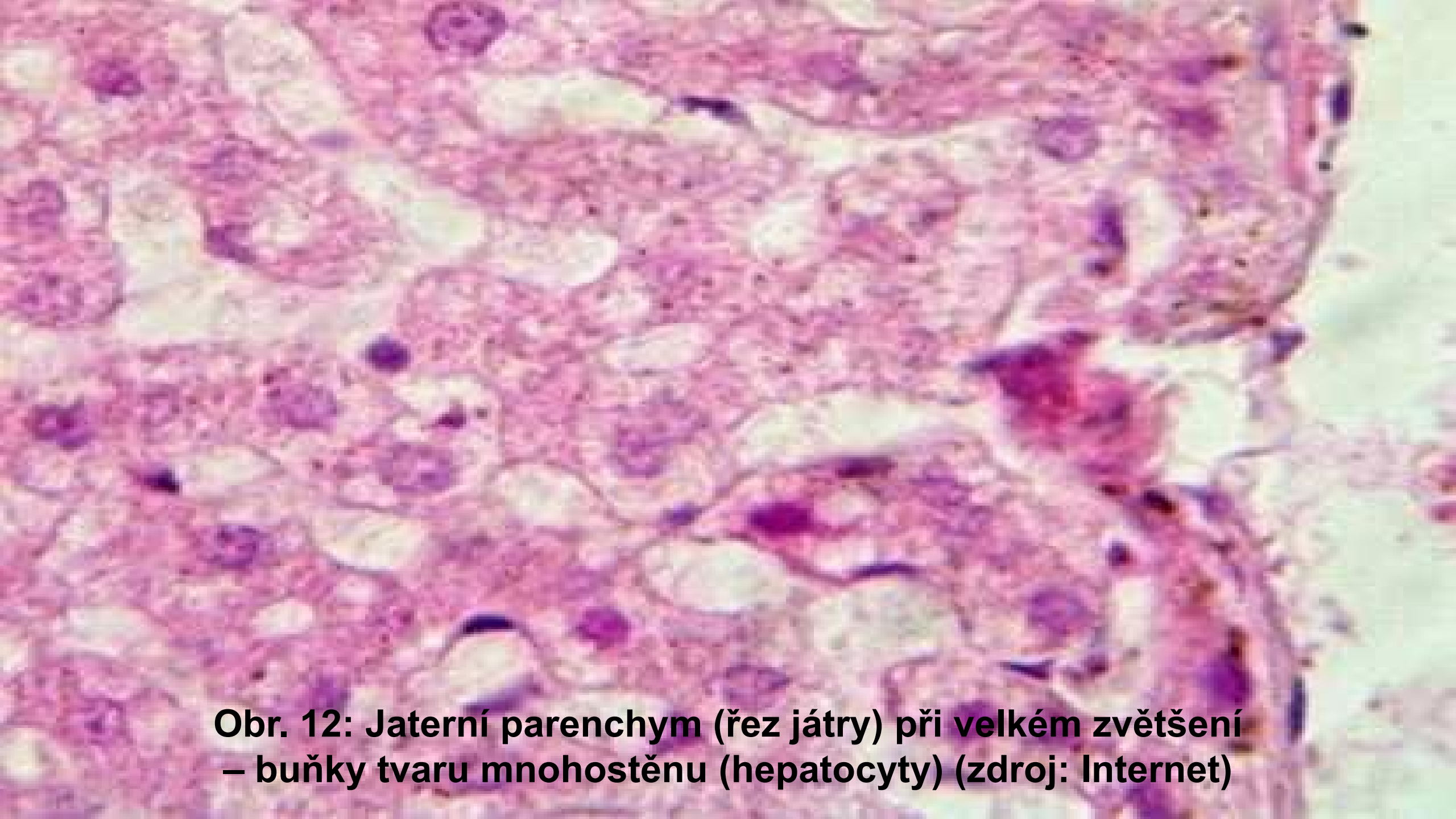


**Obr. 9: Spermie (krysy) – pohyblivé buňky s tlačným bičíkem (foto: M. Nakládal)**



**Obr. 11: Jaterní parenchym (řez játry) při velkém zvětšení – buňky tvaru mnohostěnu (hepatocyty) (zdroj: Internet)**





**Obr. 12: Jaterní parenchym (řez játry) při velkém zvětšení – buňky tvaru mnohostěnu (hepatocyty) (zdroj: Internet)**