

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.
- 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

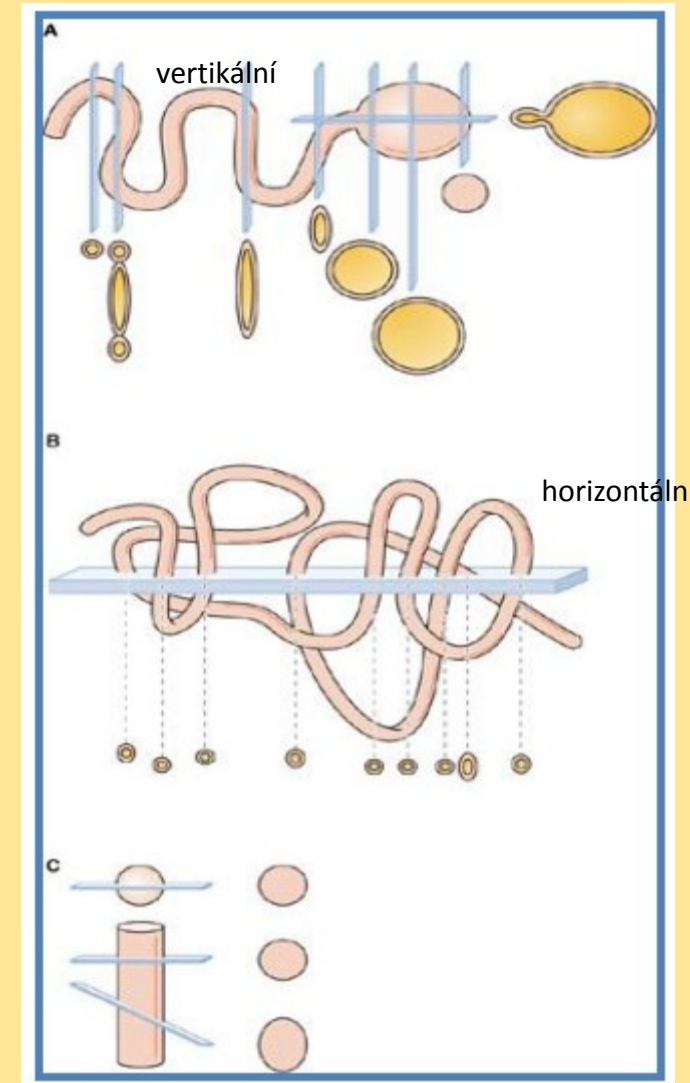
Nákres (s popisky!) a zvětšení pozorovaného preparátu

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)

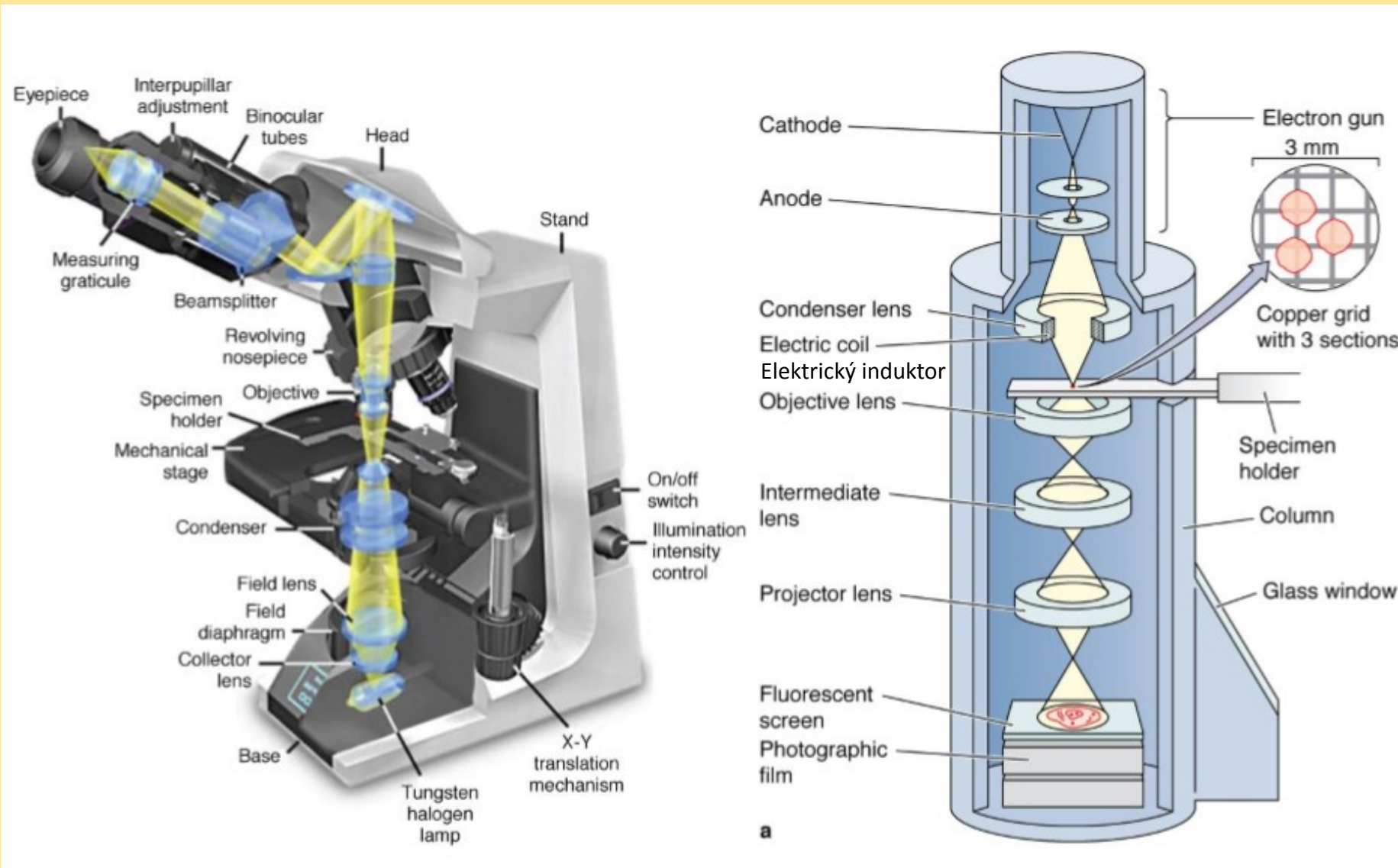


ZPRACOVÁNÍ TKÁNÍ PRO MIKROSKOPII

- 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)

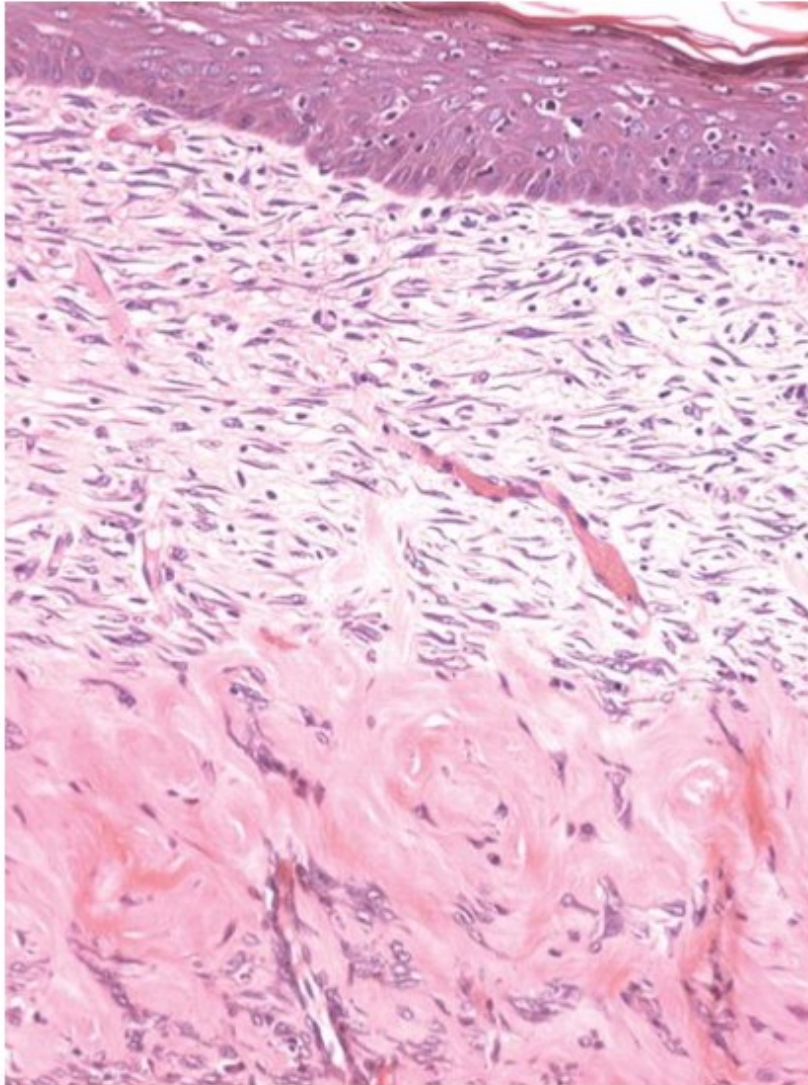
směs vyšších nasycených alifatických uhlovodíků

Druhy mikroskopů (světelný, elektronový)

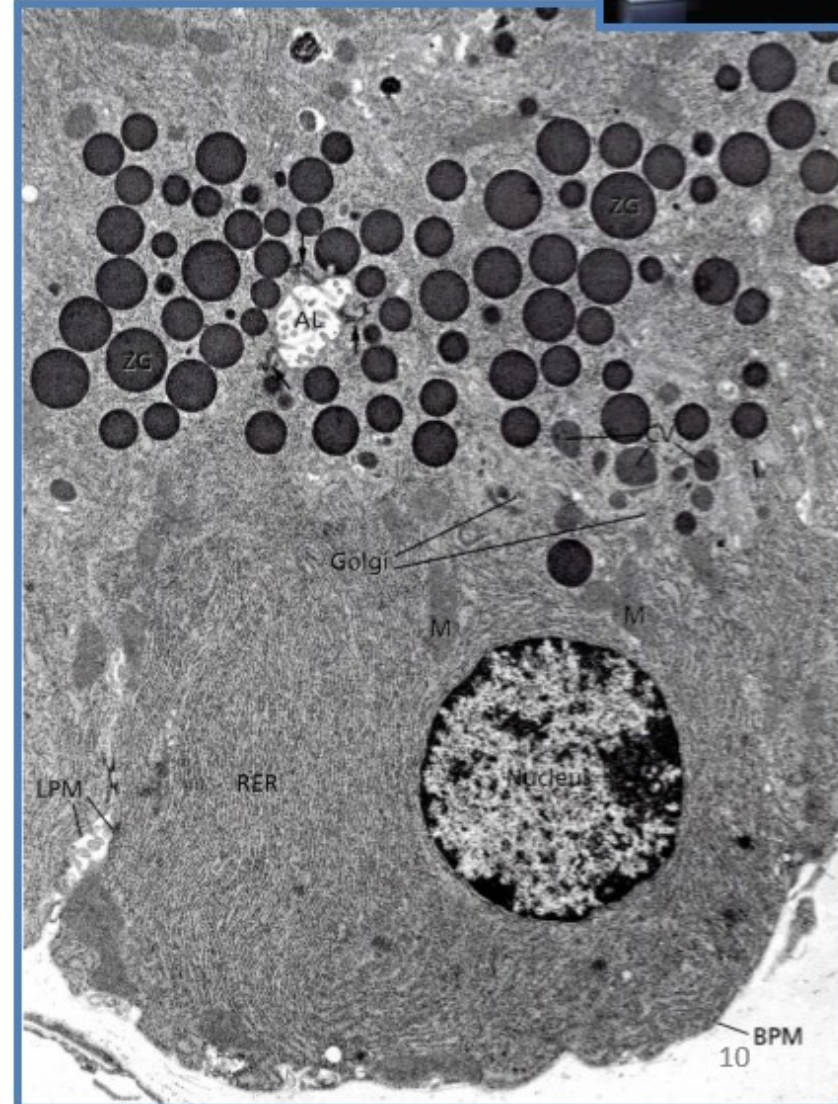




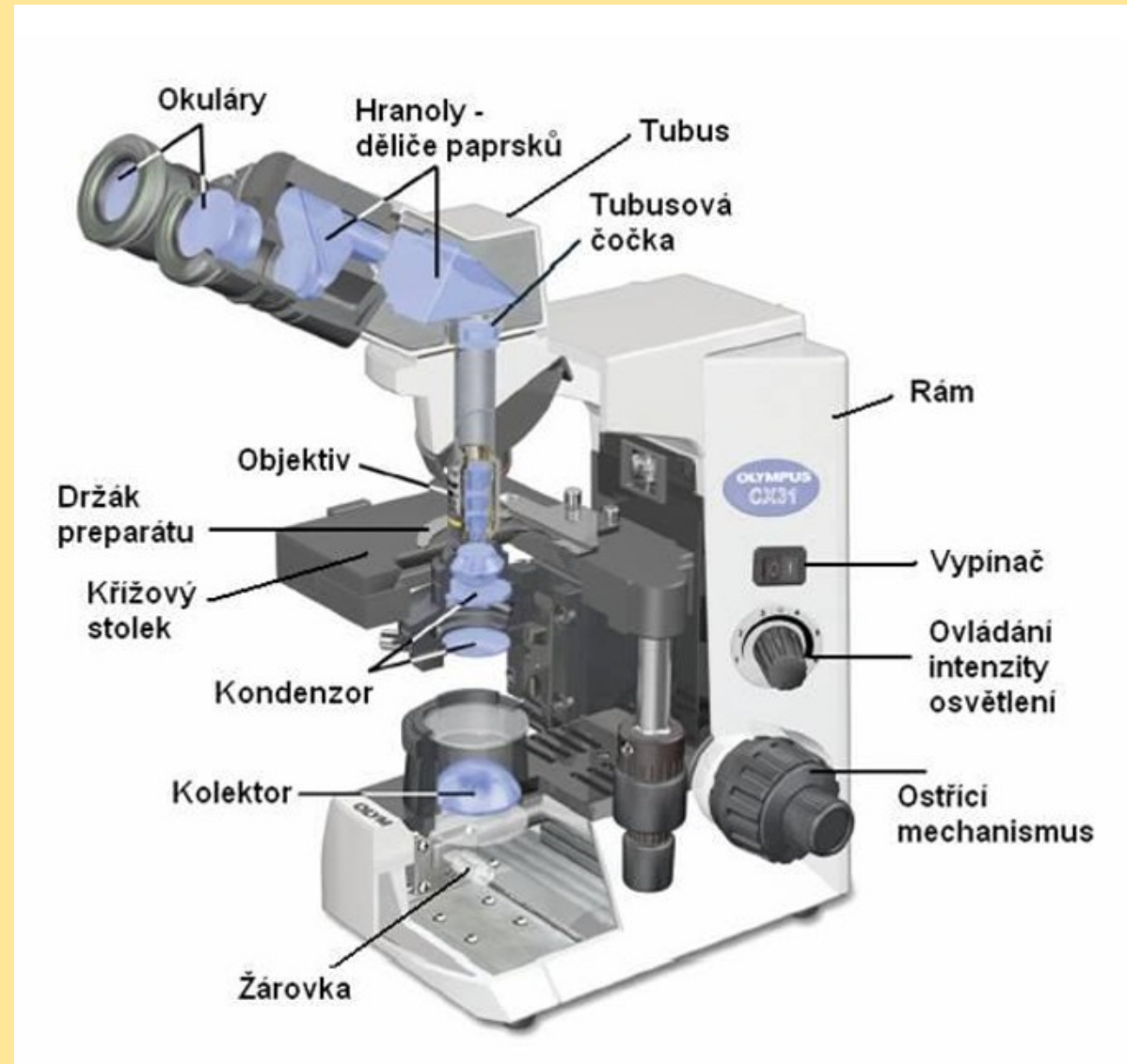
Světelný mikroskop



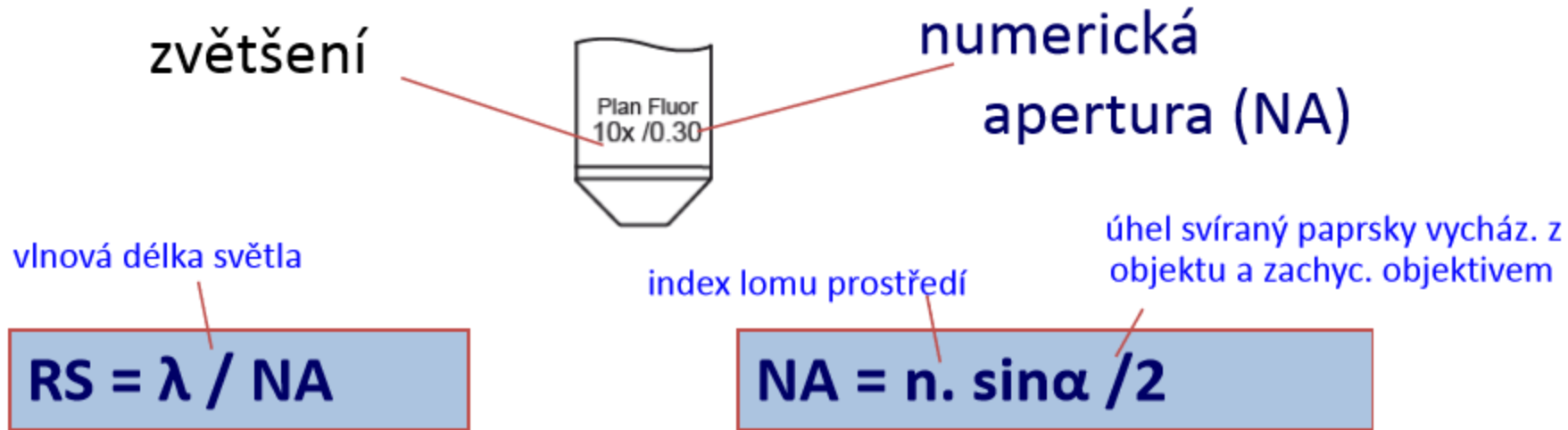
Elektronový mikroskop



Stavba mikroskopu



Objektiv – zajišťuje zvětšení a rozlišení

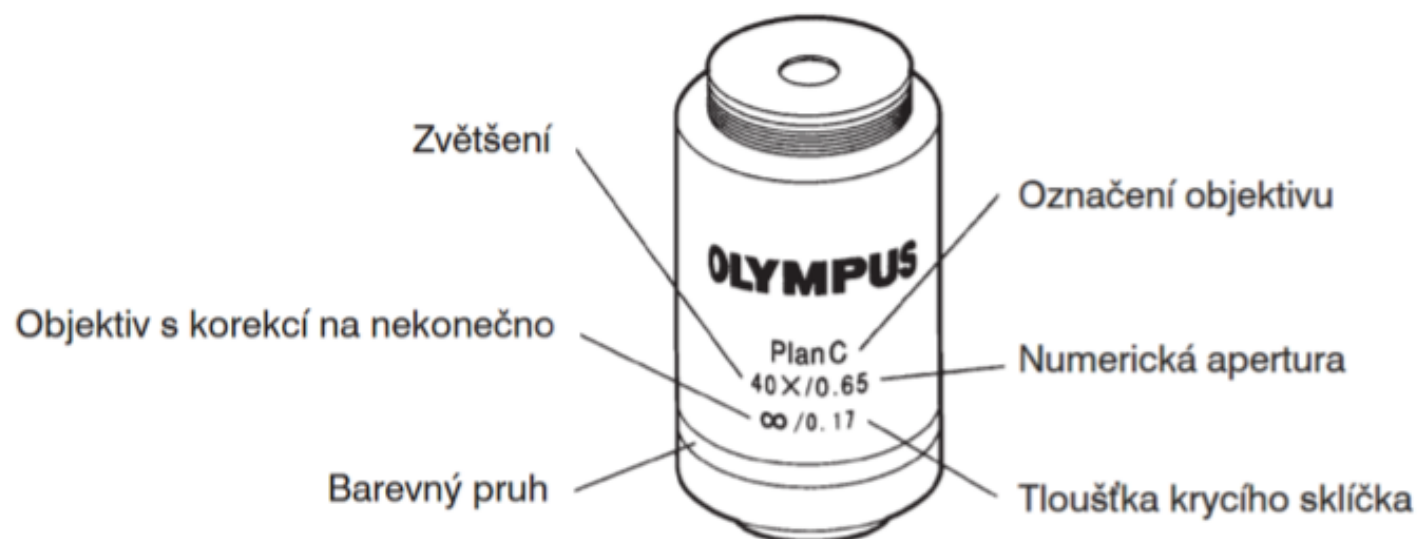


- NA – charakterizuje společně s vlnovou délkou rozlišovací schopnost = RS (čím blíže k 1, tím RS větší)
- RS – vzdálenost dvou bodů, které mikroskop zobrazí jako dva samostatné body
- RS lze zvýšit
 - A) snížením λ – využití vlastností elektronů (elektronová mikroskopie)
 - B) zvyšováním n – použití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

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.

Další optické charakteristiky



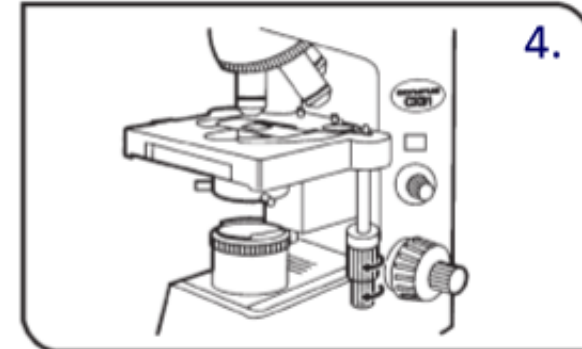
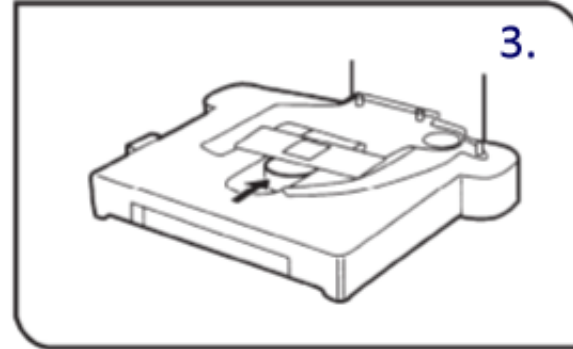
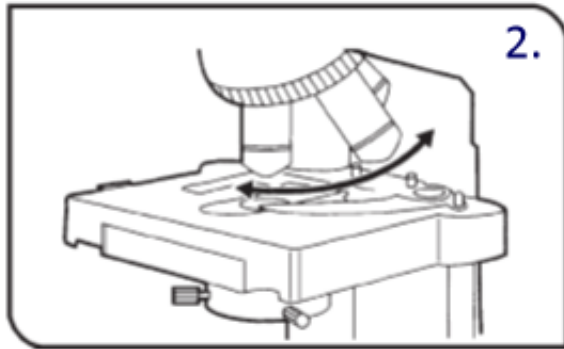
Optická charakteristika	Zvětšení	Numerická apertura	Pracovní vzdálenost [mm]	Tloušťka krycího sklíčka [mm]	Rozlišení [μm]	Okulár			Poznámka
						10X (ČP20)			
						Celkové zvětšení	Hloubka ostrosti [μm]	Zorné pole	
Plan C	4X	0,10	22,00	-	3,36	40X	175,00	5,0	(přídavný)
Plan Achromat (ČP 22)	10X	0,25	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

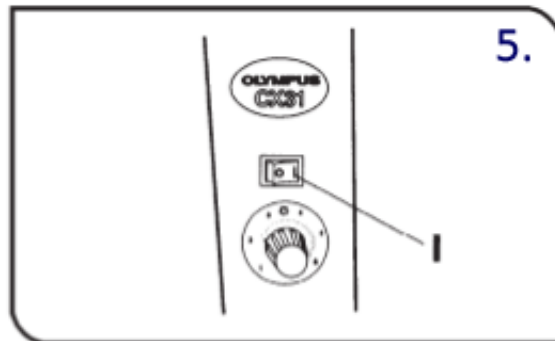
- 4x • 10x • 40x • 100x* (imerzní)
- * Imerzní tekutina se kápne (1 kapka) na krycí sklíčko preparátu a objektiv se omočí v této kapce
- v průběhu mikroskopování musí být objektiv stále spojen imerzní tekutinou s krycím sklíčkem
- po ukončení mikroskopování se musí objektiv očistit! – ether + alkohol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

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.

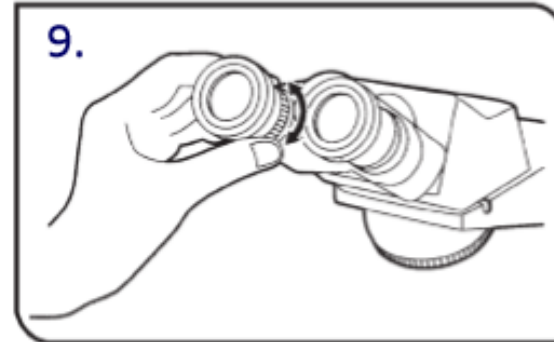
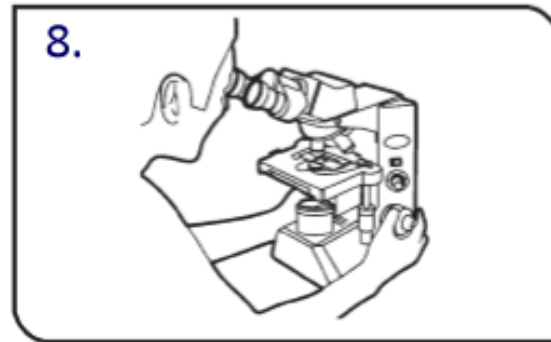
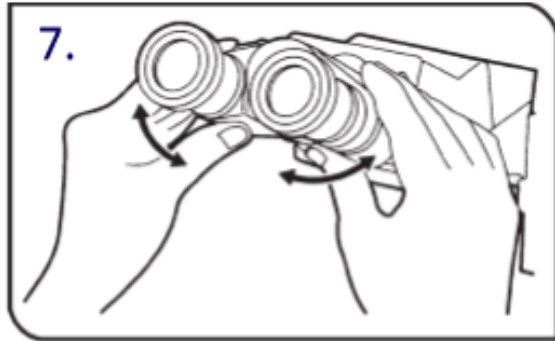


5. Přepneme hlavní vypínač do polohy „I“ (zapnuto) a nastavíme jas kolečkem na ovládání intenzity světla.

POSTUP PŘI POZOROVÁNÍ VE SVĚTLÉM POLI II.

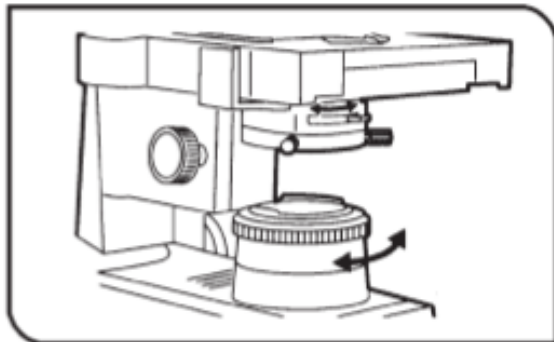
6. Makrošroubem umístíme stoleček s preparátem do nejvyšší polohy.

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.

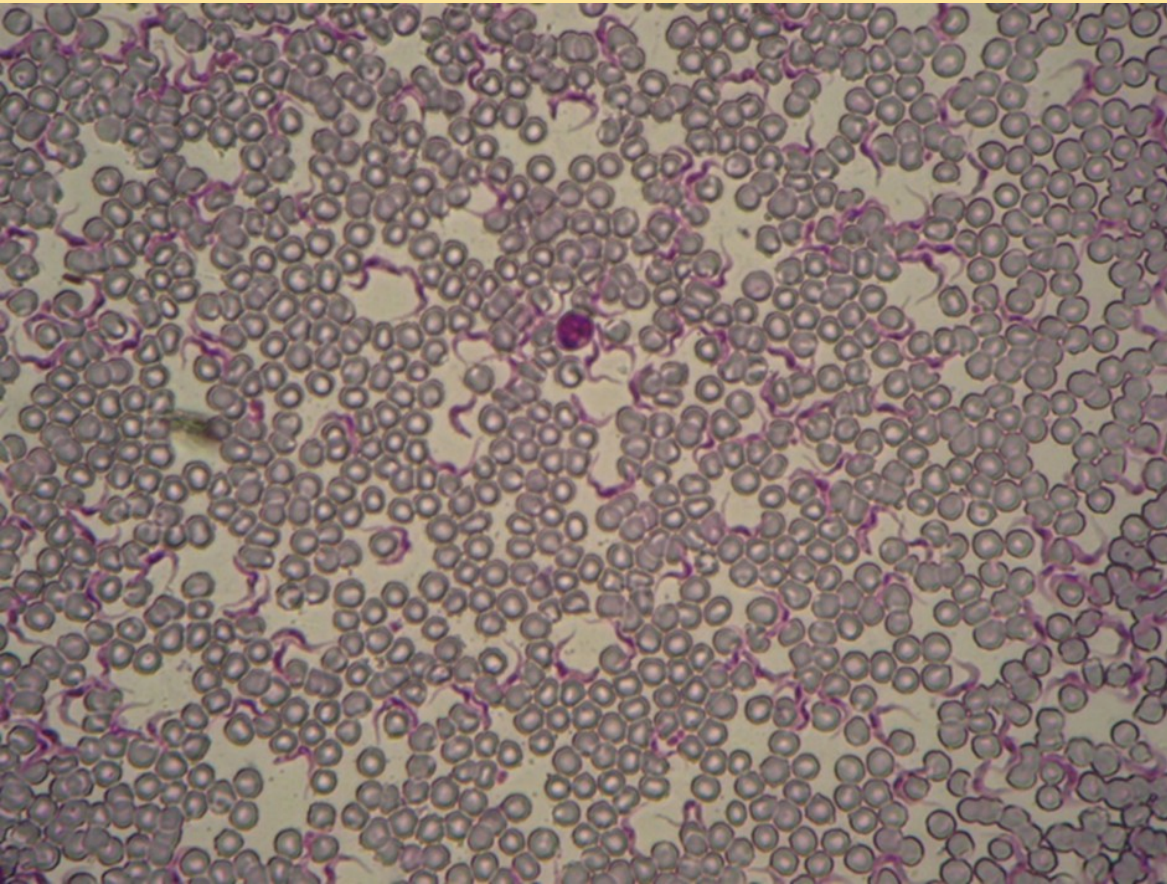


10. Aperturní (hodnota: 70-80% NA) a polní clonou lze regulovat množství světla.

Zásada!

Postupujeme od celkového obrazu k detailům.

Trypanosoma
spavičná



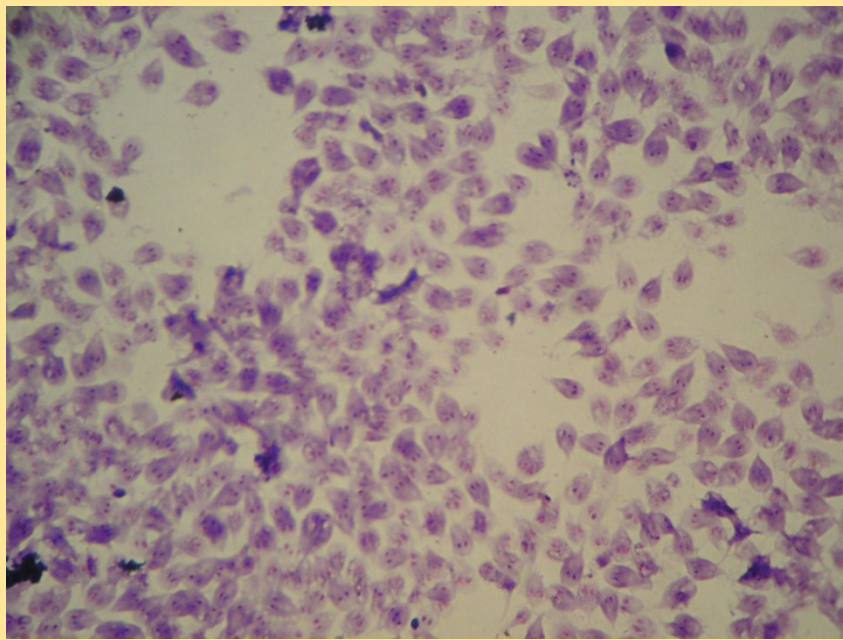
Kmen

Trypanosoma (z ptačího druhu) v klíštěti



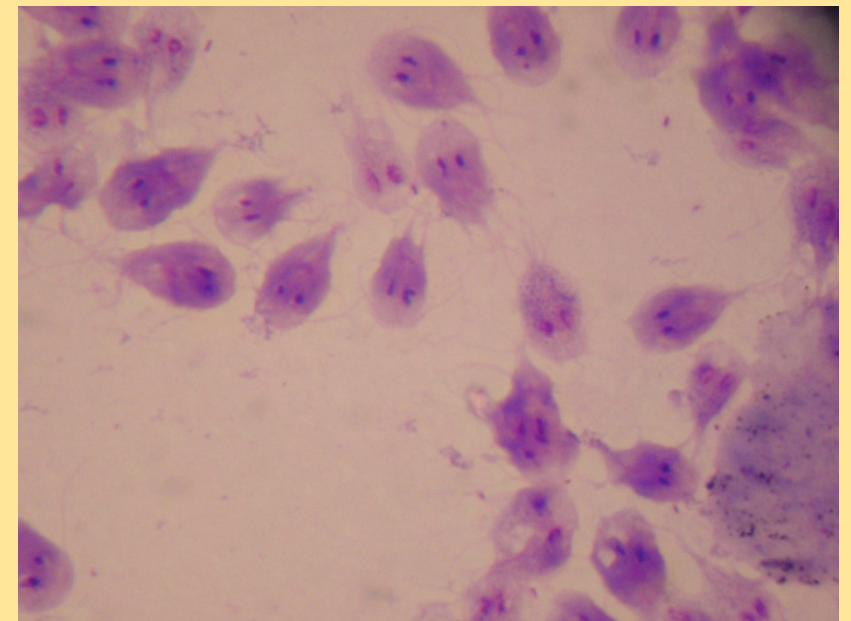
Euglenozoa
(krásnoočka)

Preparáty

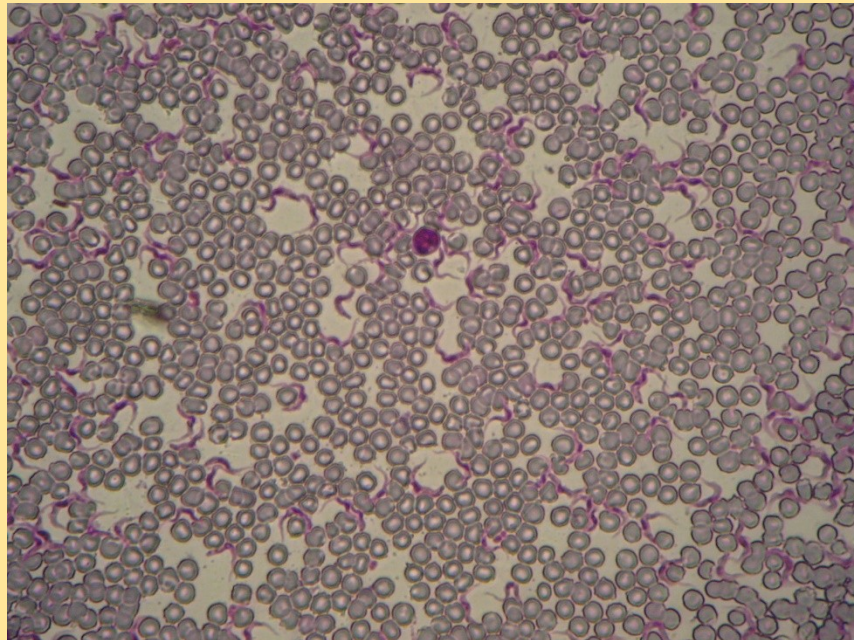


KMEN:
FORNICATA

Lamblia střevní



Lamblia střevní



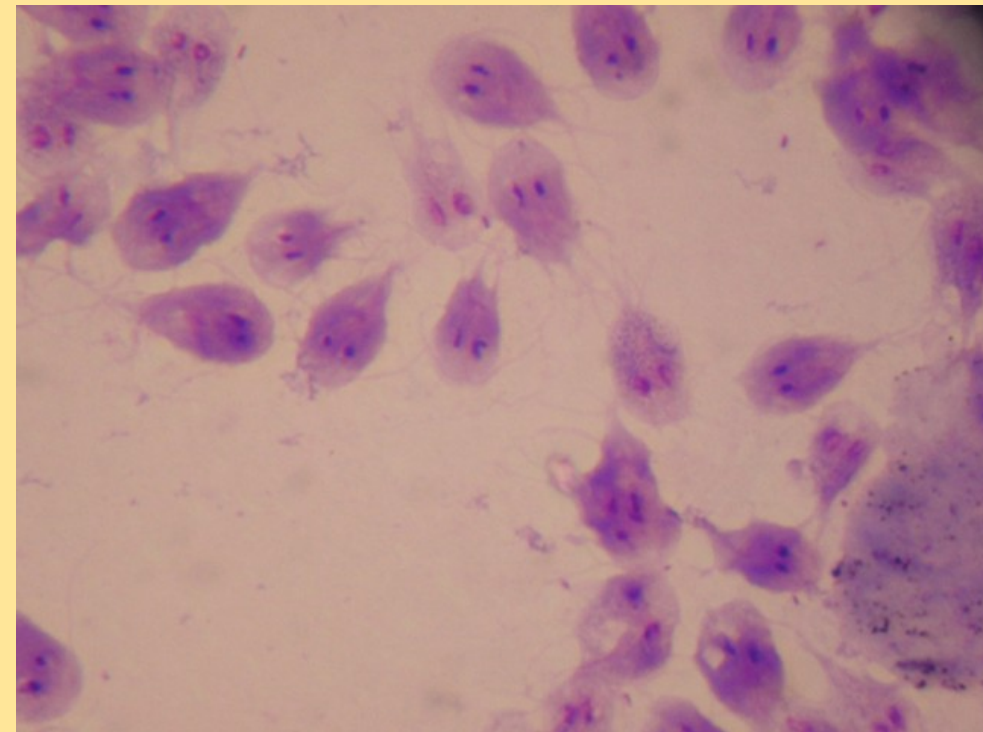
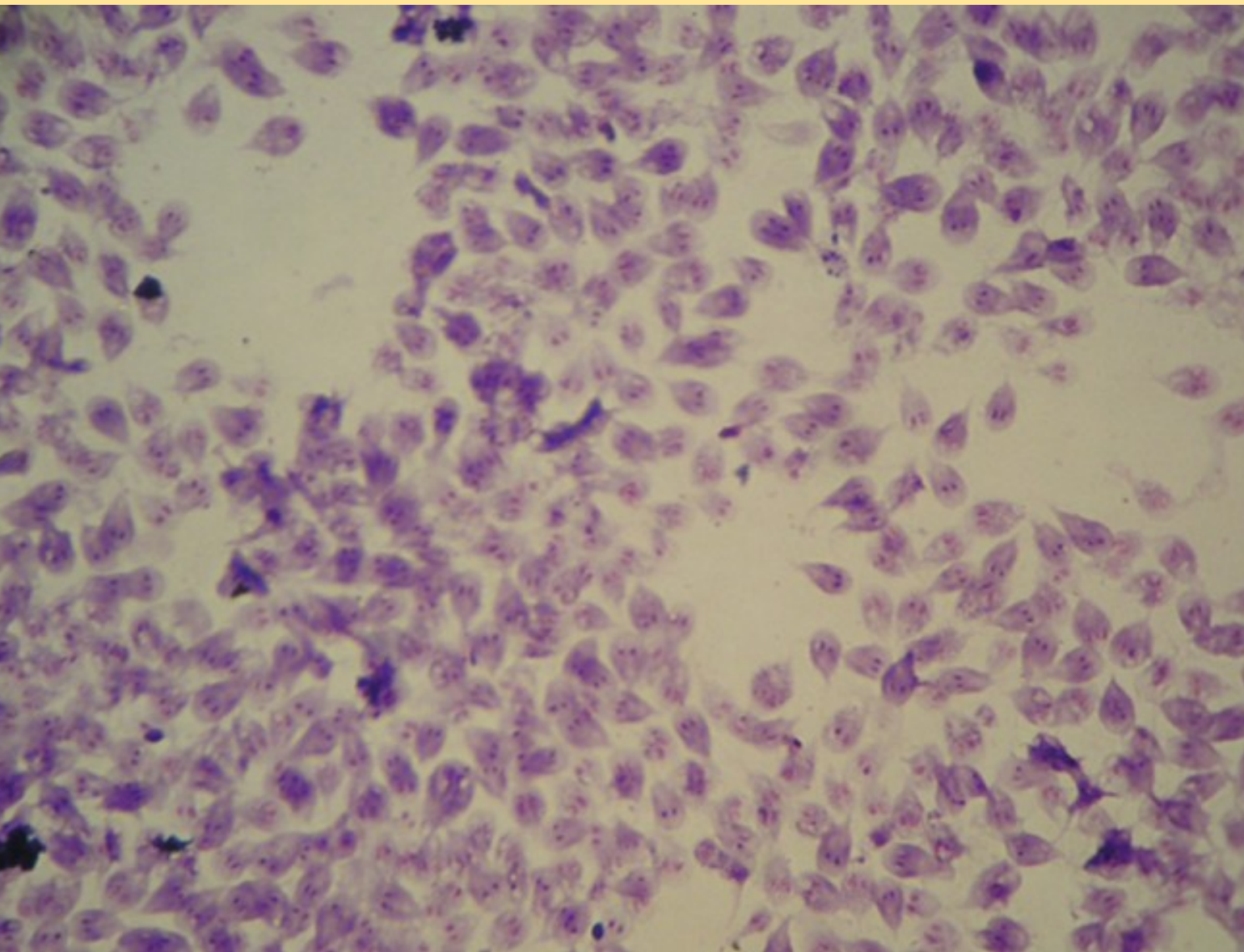
KMEN:
EUGLENOZOA

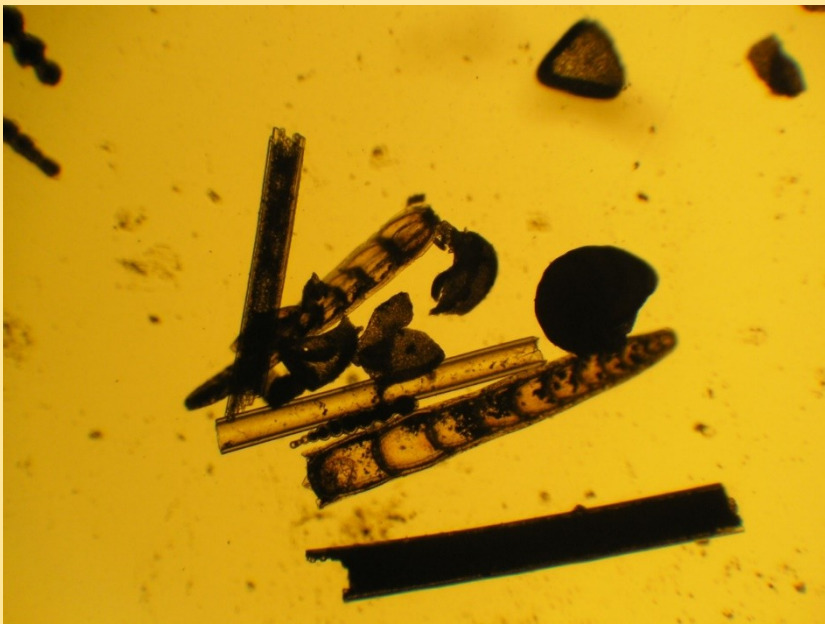
Trypanosoma spavičná (gambiense)



Trypanosoma ptačí v klíštěti

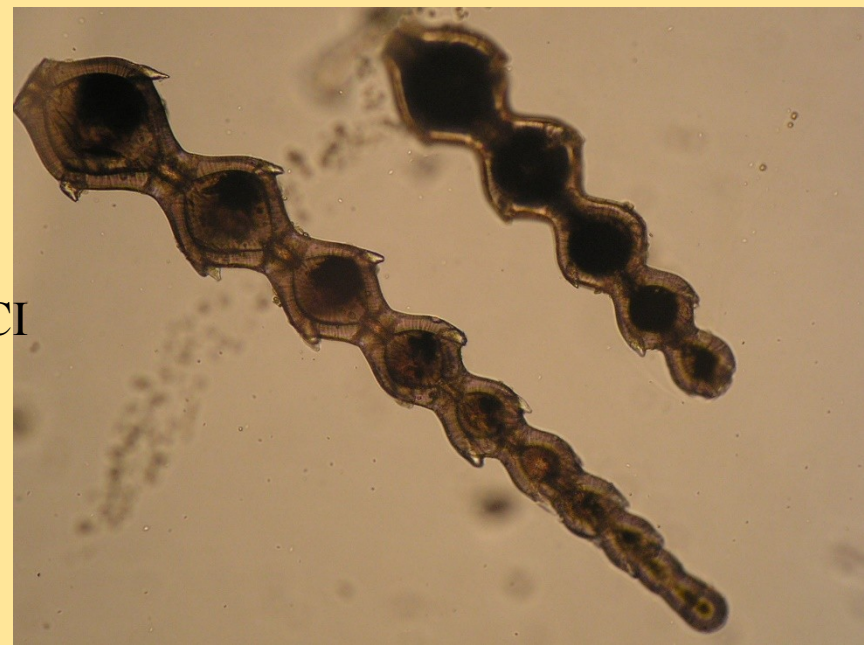
Lamblija střevni



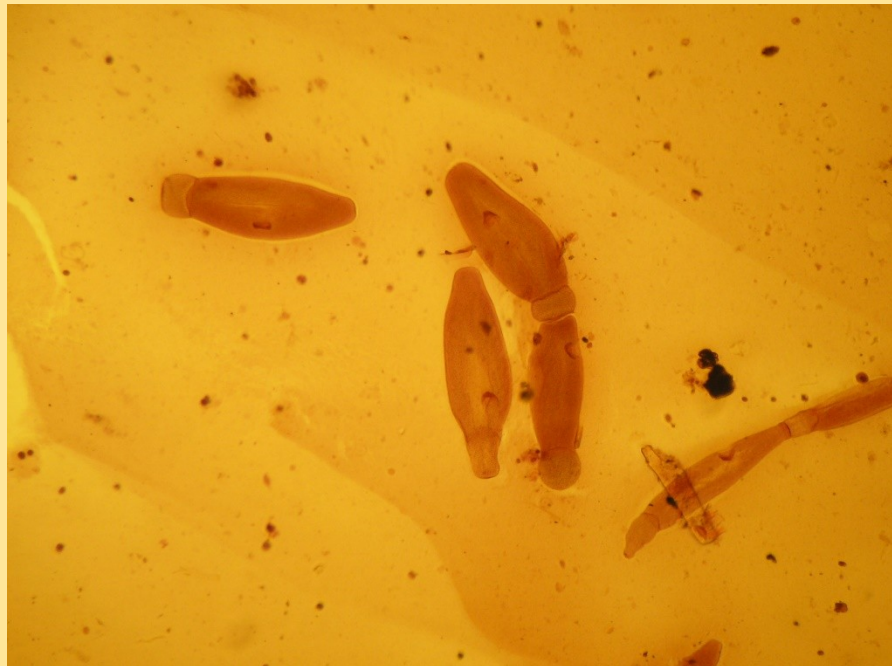


kmen: DÍRKONOŽCI
FORAMINIFERA
Mořští prvoci

Rod Dírkonozci - foraminifera

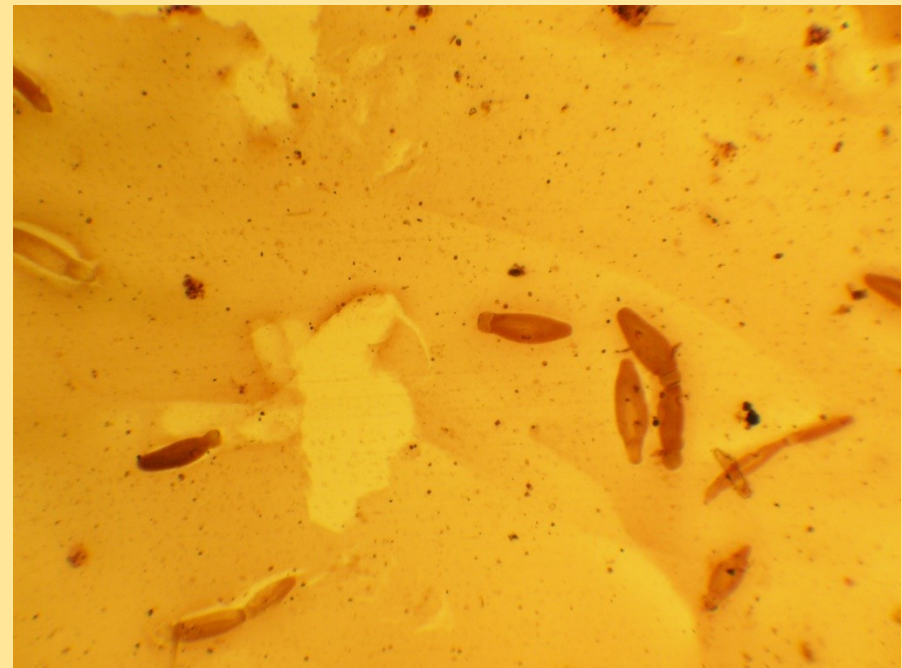


dírkonozci



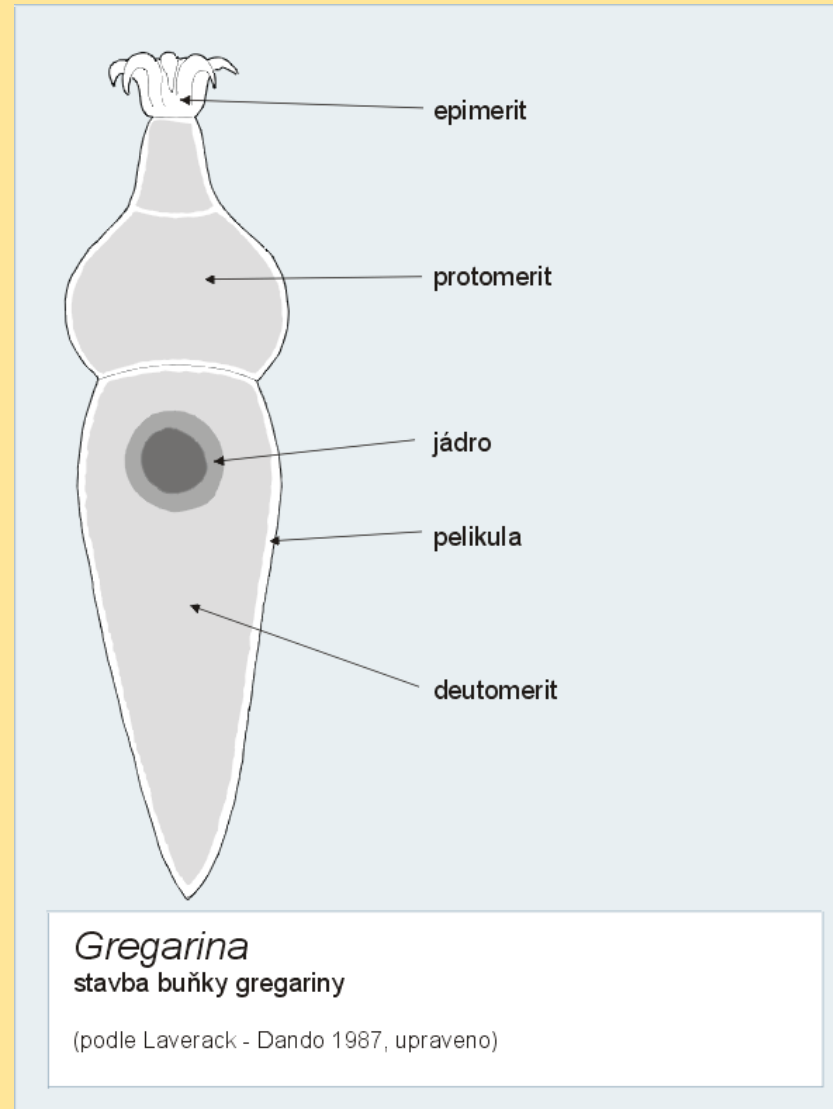
kmen:
VÝTRUSOVCI
APICOMPLEXA

Rod Gregarina – ptř. hromadinky



hromadinky

Rod Gregarina – ptř. hromadinky

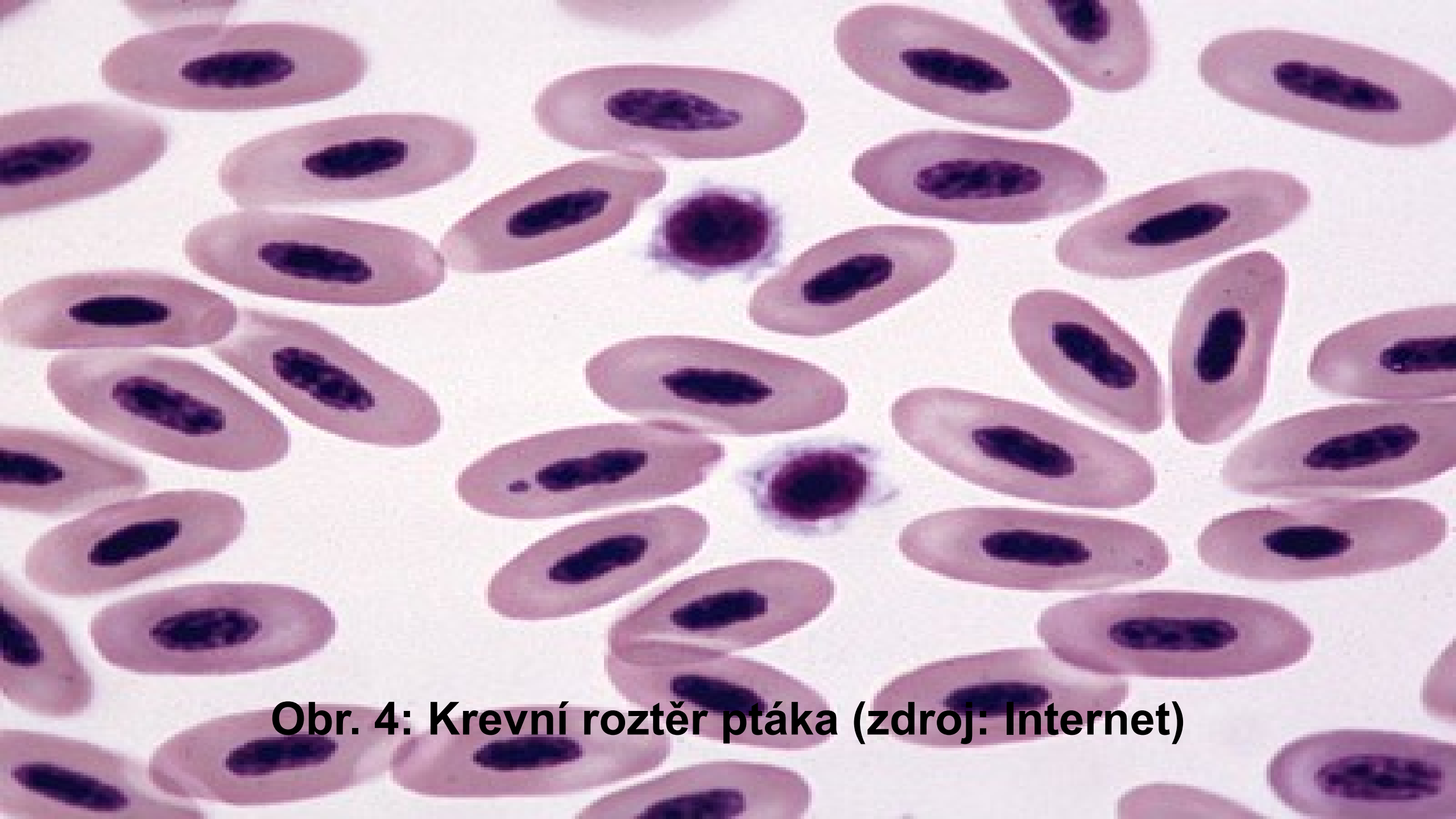




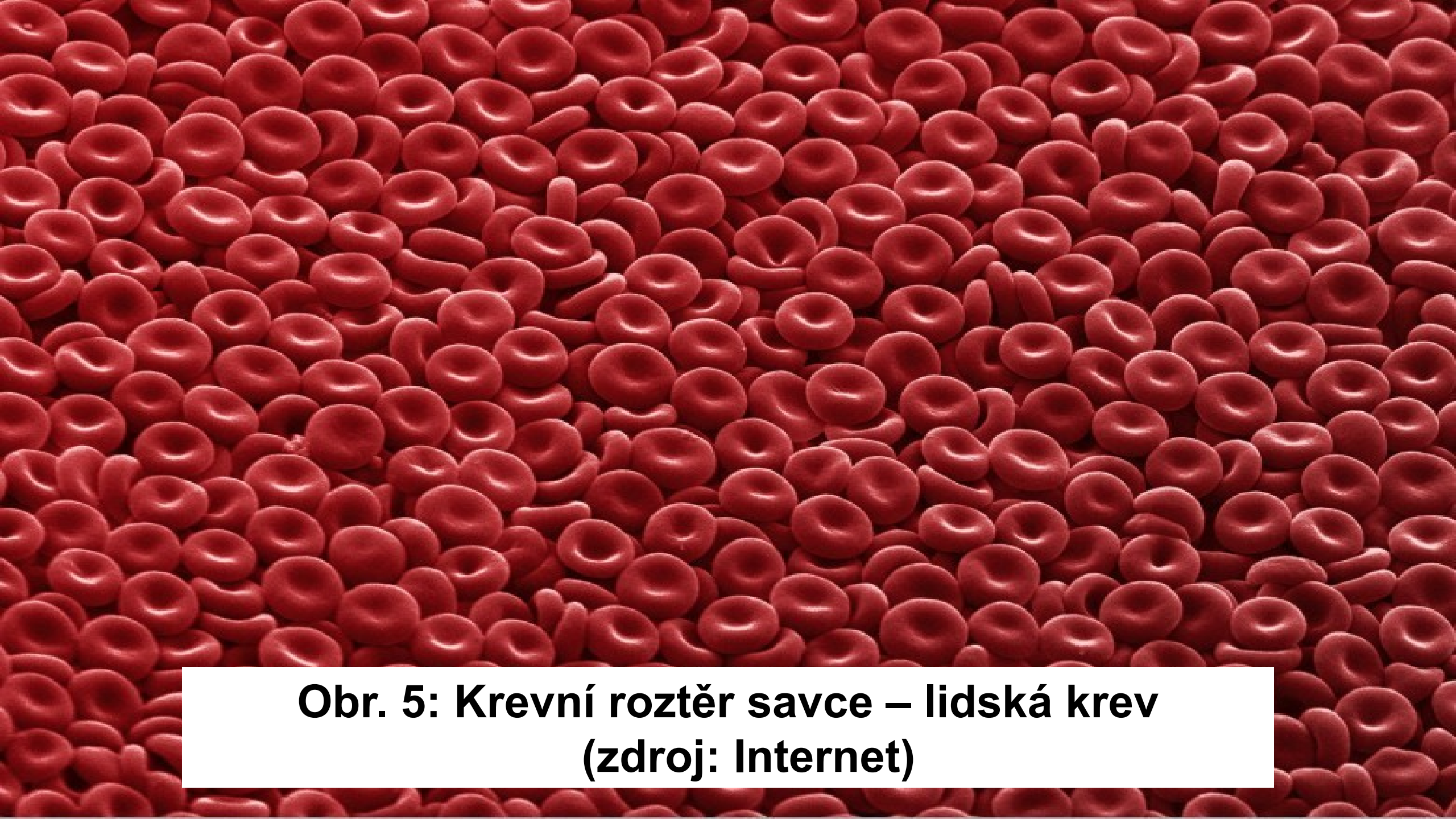
Obr. 2: Krevní roztěr ryby (zdroj: Internet)



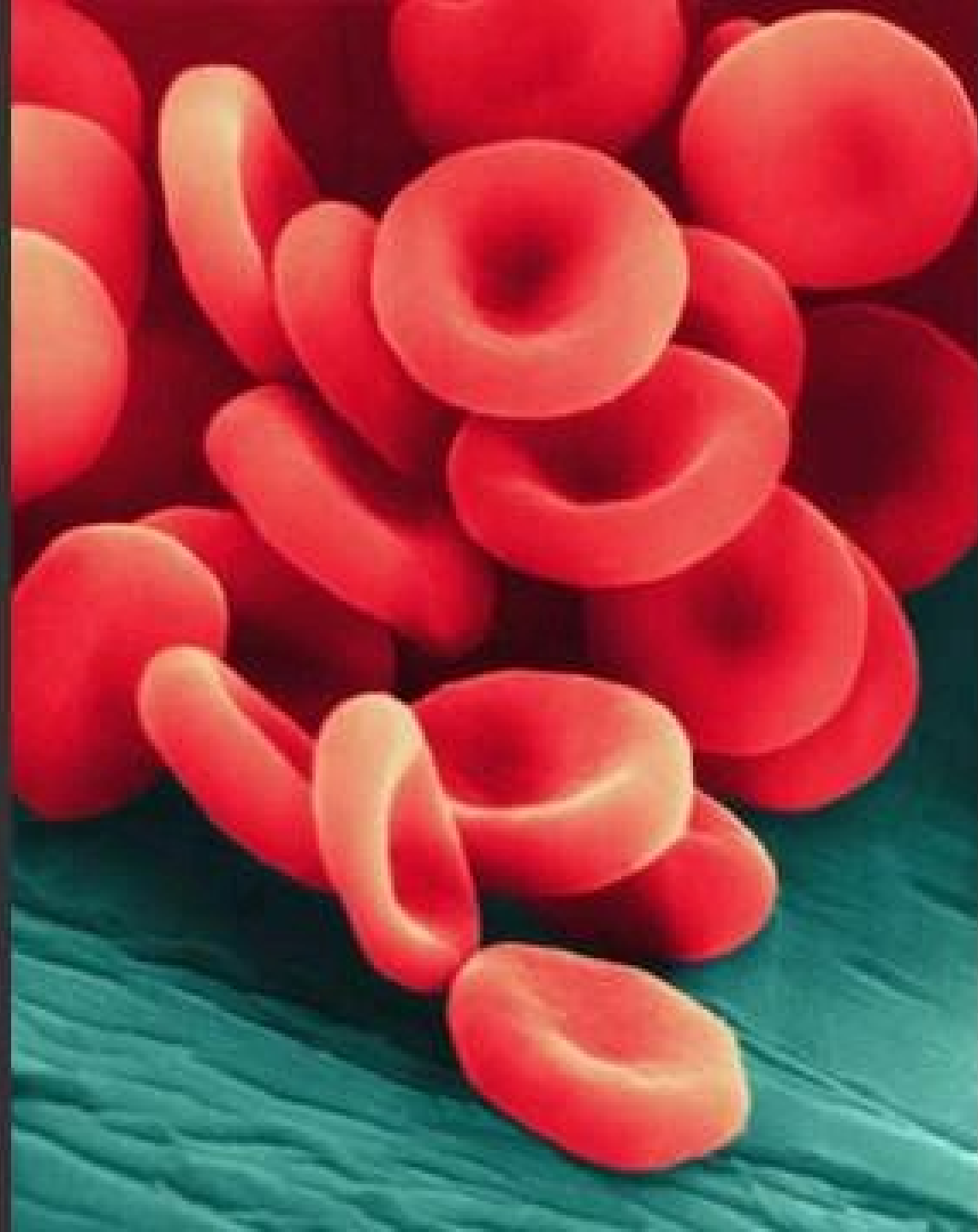
Obr. 3: Krevní roztěr žáby (zdroj: Internet)

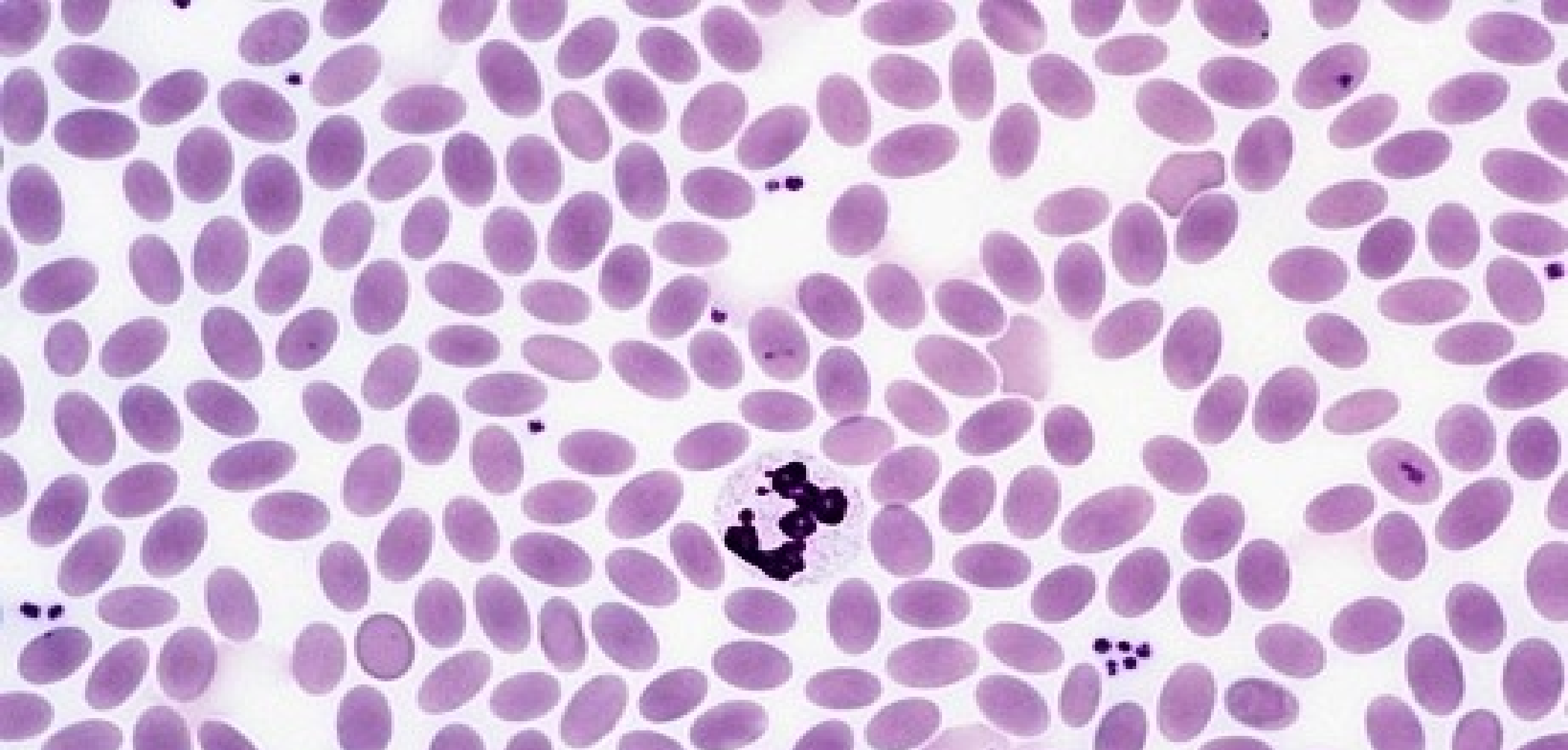


Obr. 4: Krevní roztěr ptáka (zdroj: Internet)



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



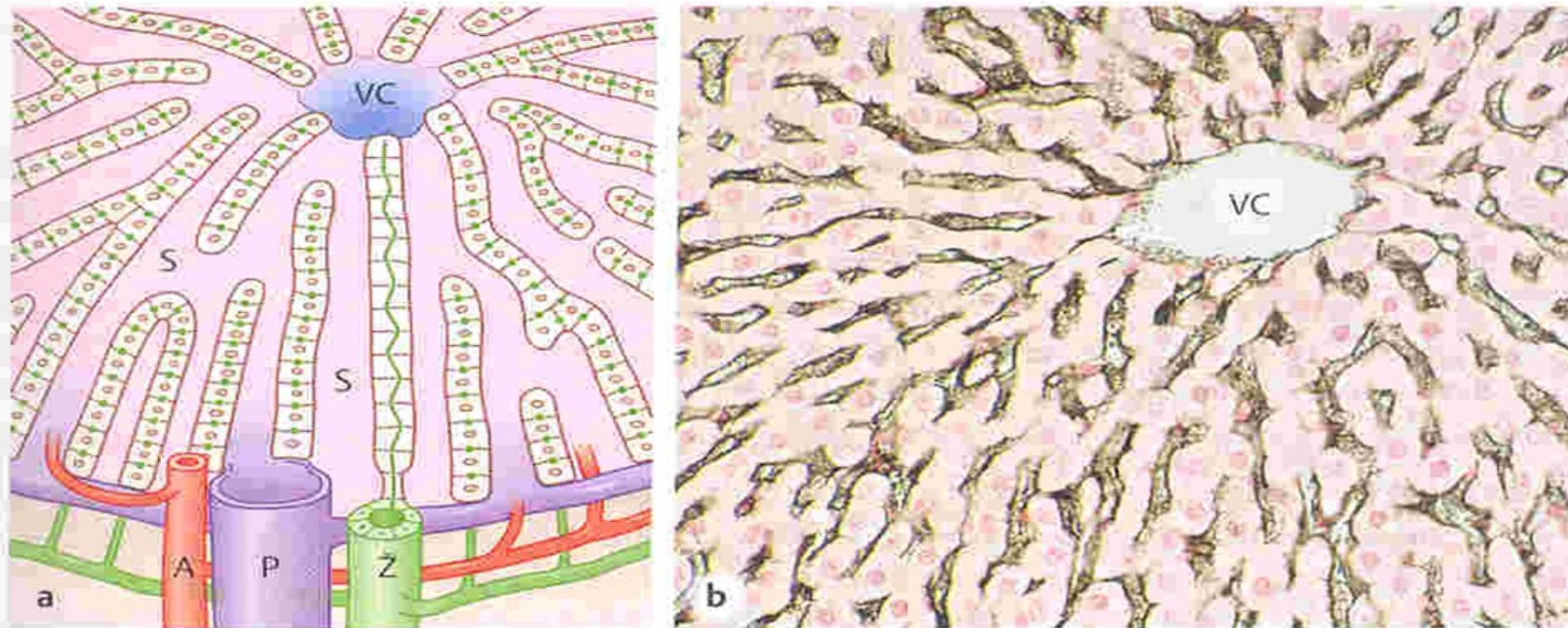


Obr. 7: Krevní roztěr velblouda (zdroj: Internet)

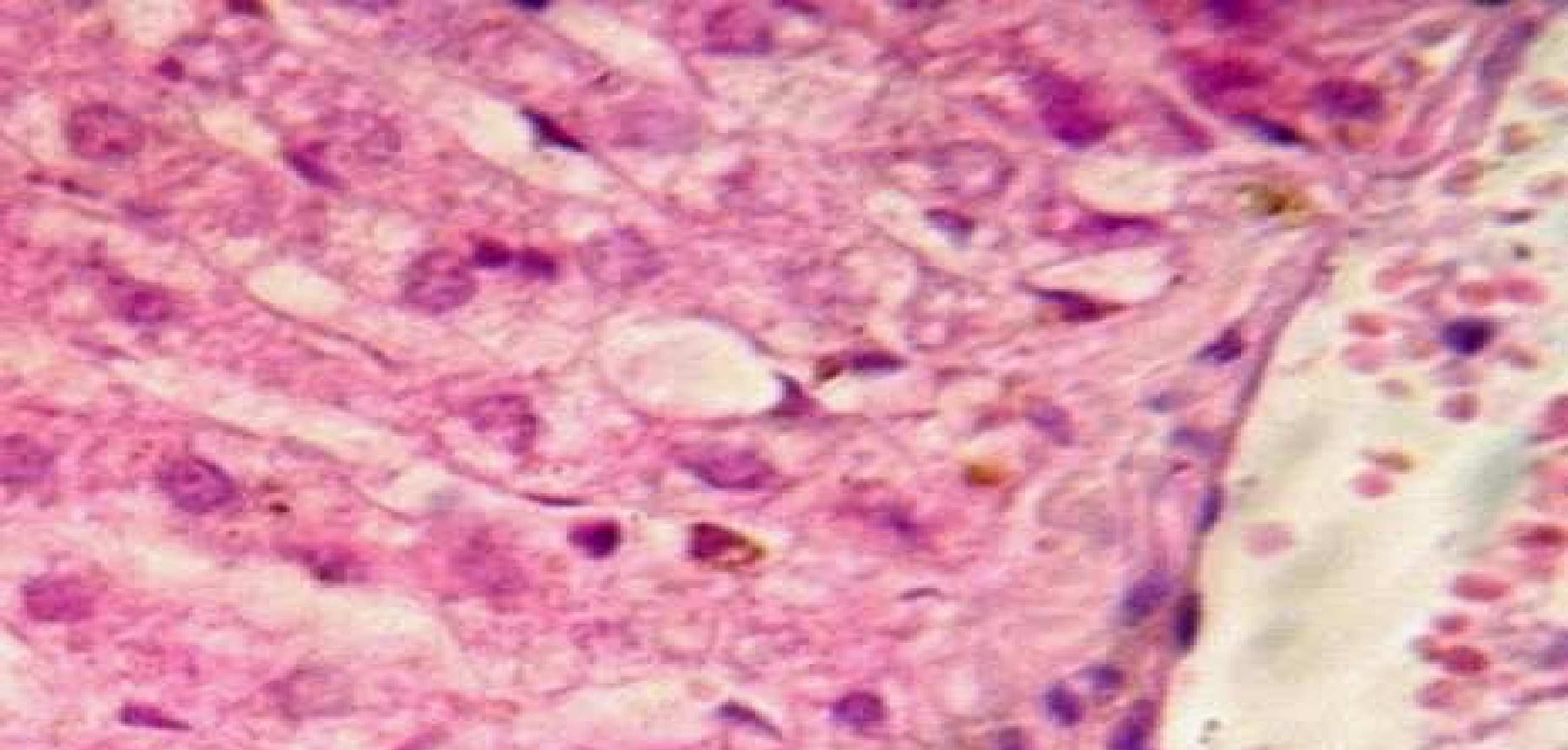


Obr. 9: Spermie (krysy) – pohyblivé buňky s tlačným bičíkem (foto: M. Nakládal)

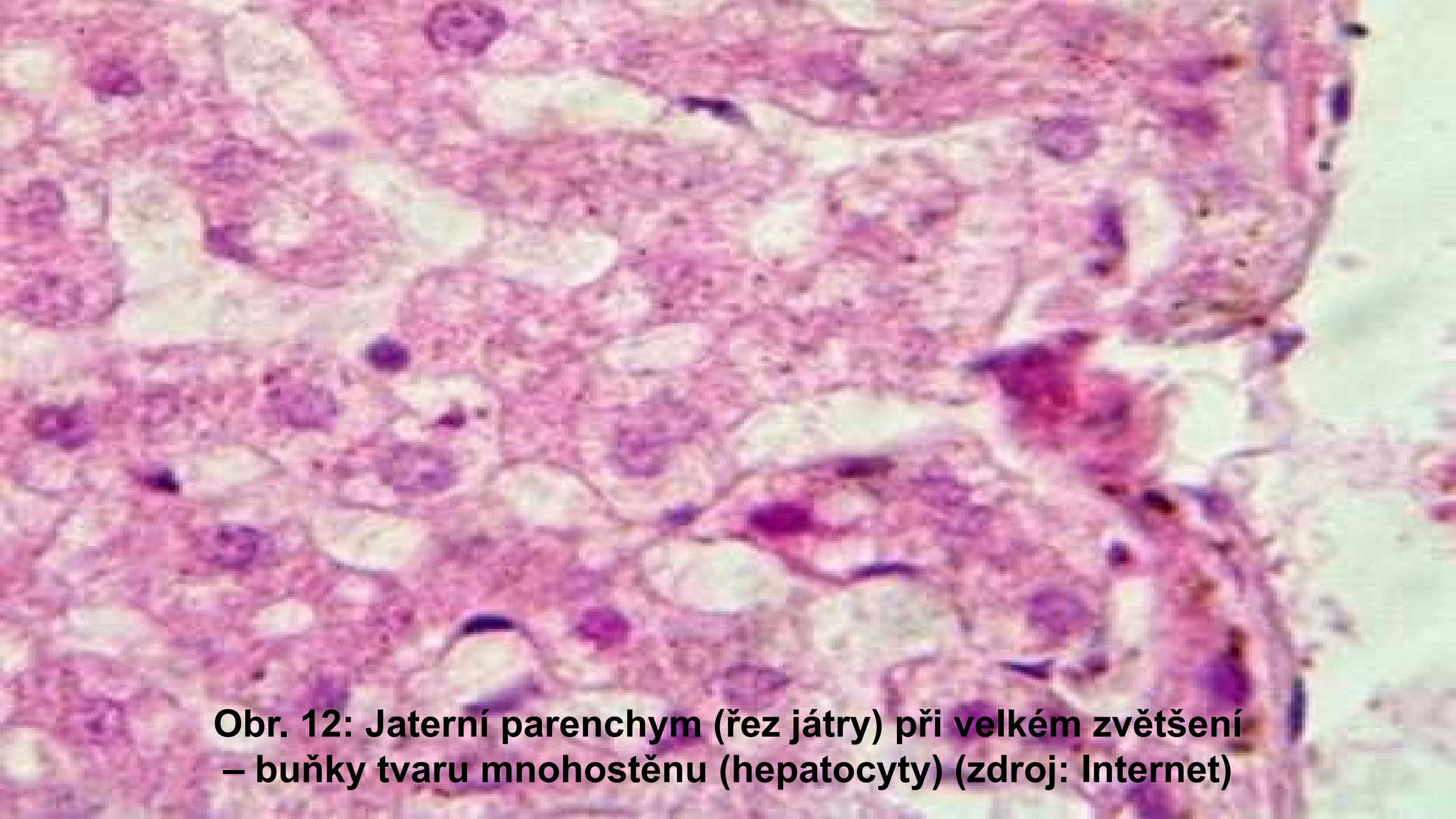
Obrázek k vysvětlení k epitelu jaterního parenchymu



Obr. 17 **4 a** **Uspořádání jaterních trámců a sinusoid (S).** Sinusoidy se paprscitě sbíhají k vena centralis (VC). Endothel není pro zachování přehlednosti znázorněn (srov. obr. 17.6). Mezi buňkami trámců probíhají žlučovody (zeleně). V portobiliárním prostoru leží paralelně s dlouhou osou lalůčku větve v. portae (P), a. hepatica propria (A) a žlučovod (Ž). Z nich odstupují cirkumlobulární větévky běžící cirkulárně na periferii lalůčku. Společně s nimi běží nejmenší žlučovody, které odvádějí žluč z intralobulárních žlučových kanálků. **b** Zvětšený výřez z obr. 17.3b představuje trámce jaterních buněk (růžově) a vyústění sinusoid do vena centralis. Zvětš. 640x.



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)

Zdroje

- odkaz histologie/organologie
- <http://www.histologyguide.com/>
- https://is.muni.cz/do/rect/el/estud/lf/js18/histologie_atlas/web/atlas_MA.html?chapter=3&item=51

Říše: Prvoci

- **Kmen: Bičíkovci (Mastigophora)**
- **Kmen: Kořenonožci (Rhizopoda)**
- **Kmen: Paprskovci (Actinopoda)**
- **Kmen: Hlenky (Myxetozoa)**
- **Kmen: Nádorovky (Plasmodiophorida)**
- **Kmen: Výtrusovci (Sporozoa)**
- **Kmen: Nálevníci (Ciliophora)**
- **Kmen: Krásnoočka (Euglenozoa)**
- **Kmen: Obrněnky (Dinozoa)**

Charakteristika: jednobuněčná eukaryota, volně žijící i parazitičtí

- Eukaryota – rozdělení buňky na funkčně rozdílné prostory, jádro s více než jedním složitým chromosomem, v buňce cytoskelet v podobě filamentů a tubulů