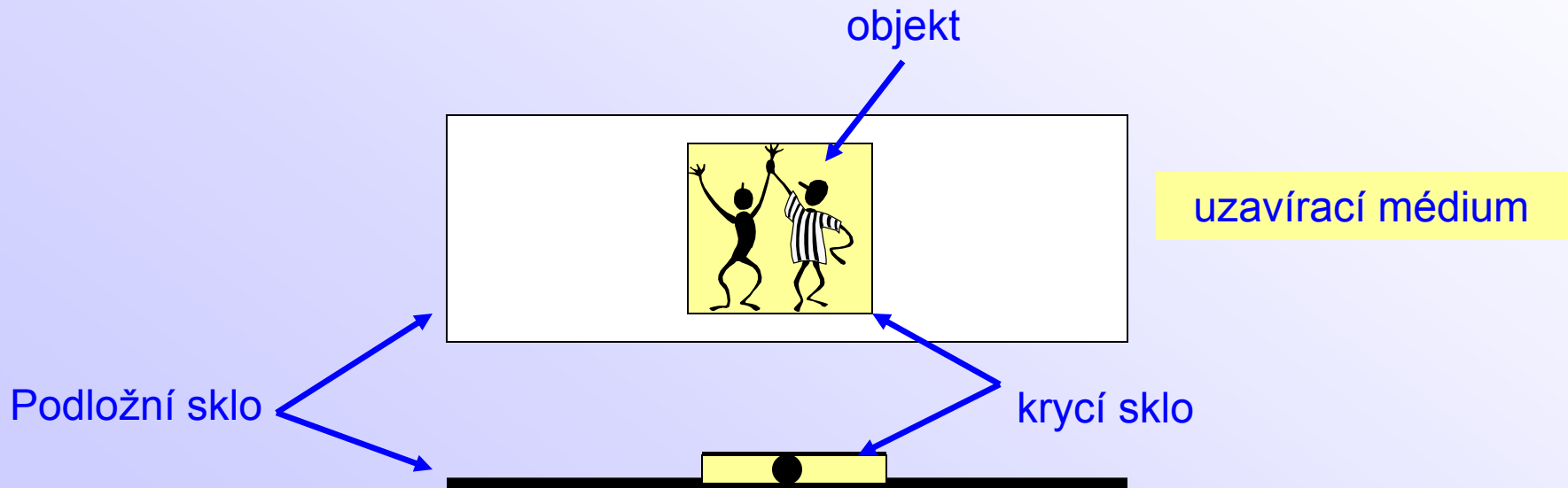


Příprava mikroskopických preparátů

zhotovení - objekt uzavřeme do vhodného média a prohlížíme mezi sklem podložním a krycím

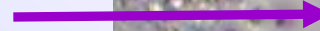
uzavírací médium - tekuté nebo tuhnoucí, zřídka vzduch,



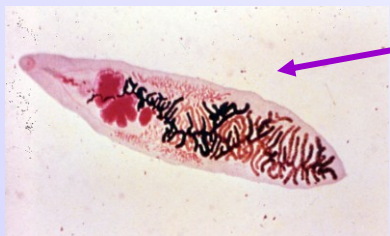
Druhy preparátů

Podle trvanlivosti:

dočasné - nativní, čerstvé
trvalé



Podle způsobu přípravy:

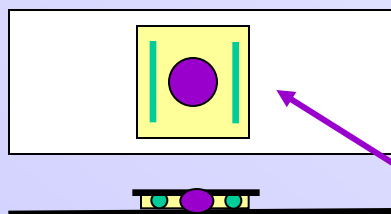
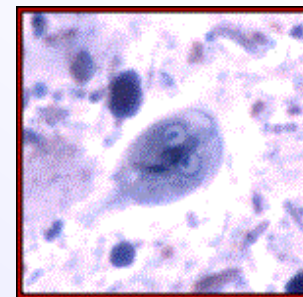
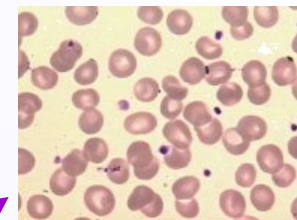


- **totální** (celé objekty - např. motolice)

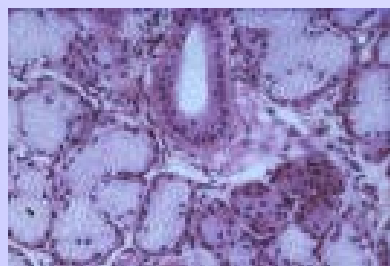
- **roztěry** (z tekutin, v nichž jsou rozptýleny drobné objekty)

- **suché** (krevní roztěry, spermie)

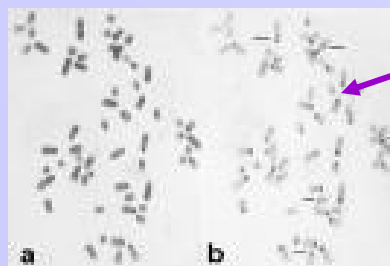
- **vlhké** (střevní prvoci)



- **vlhká komůrka** (visutá kapka s objekty)



- **řezové preparáty** (histologické řezy - polotenné, tenké, tlusté řezy žiletkou)



- **roztlaky** (karyotypy)

- **výbrusy** (tvrdý materiál - kosti, zuby)



Nativní preparát, vitální barvení

Nativní preparáty

studium nativních preparátů - nejstarší metoda v biologii

výhody:

neporušený objekt

možnost pozorovat pohyb buněk

činnost organel - pohyb bičíků, řasinek, kontraktilní vakuoly

nevýhody:

omezený výběr materiálu (velikost, sezóna)

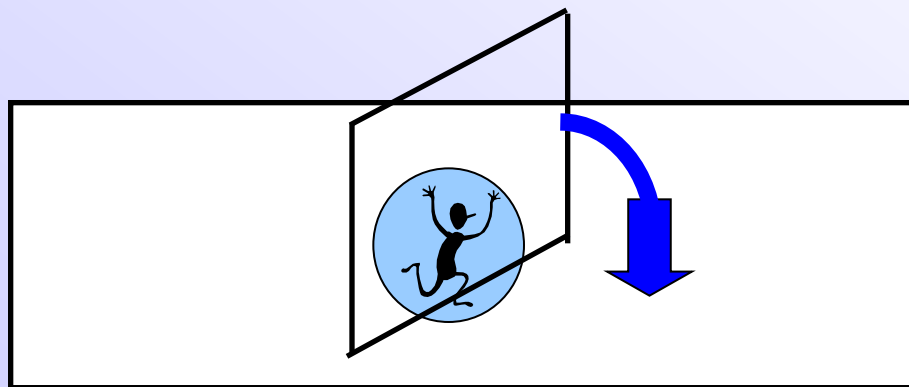
časové omezení

izolované buňky (krev, lymfa, leukocyty, roztlačené vazivo, chrupavka na řezech, pozorování buněčného dělení, průkaz vajíček, cyst nebo vegetativních stádií střevních parazitů ve stolici atd.)

drobné organismy

Příprava nativního preparátu

1. kapka média do středu podložního skla (*velikost kapky*)



2. vložíme objekt (*orientace*)

3. přikryjeme krycím sklíčkem

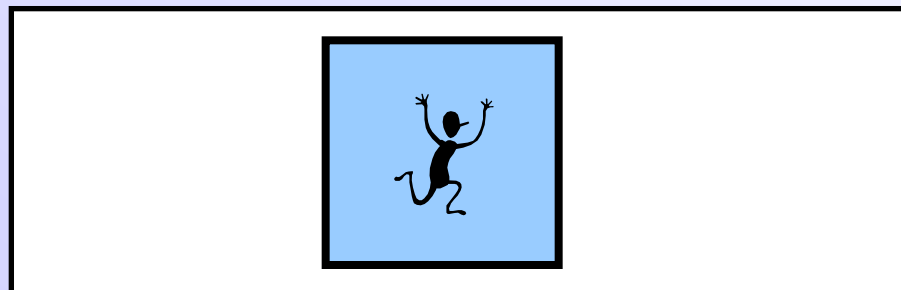
!!! bubliny !!!

Jak položit krycí sklíčko?

- hranou na podložní sklo pod úhlem 45°, podepřít jehlou a přiklopit
- uchopit za hrany do dvou prstů, položit kolmo shora

Přiměřené množství média

- přikápnout
- odsát



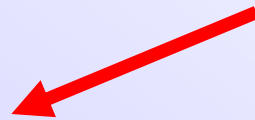
Tekutiny pro nativní preparáty

suché preparáty

přirozené prostředí - pro volně žijící organismy (voda sladká, mořská)

umělé izotonické prostředí - fyziologický roztok

kroužkovci



NaCl v destilované vodě,
Ringerův roztok, Lockeho roztok
- 0,45% NaCl

ryby, obojživelníci

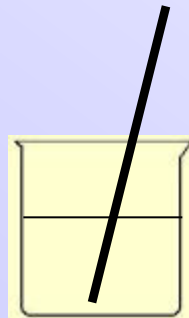
- 0,64% NaCl

plazi

- 0,80% NaCl

ptáci, savci

- 0,90% NaCl



Vitální barvení

Barvení je biochemická metoda, kterou se přidá k objektu specifická barvicí látka (barvivo) a slouží k prokázání výskytu (kvalifikaci) nebo množství (kvantifikaci) specifické látky ve zkoumaném objektu nebo ke zvýraznění vnitřních struktur.

Barvení (buněk, tkáně) za živa je **vitální barvení**

Do živé buňky pronikají pouze tzv. **vitální barviva**

Potravní vakuoly (ph)

Makronukleus, jádra buněk

Mitochondrie

Neutrální červeň

Kongo červeň

metylenová zeleň

metylenová modř
(nervová ukončení, gangliové buňky)

Bismarkova hněd'

Janusova zeleň B

Nilská modř

Lugolův roztok
(jádra buněk)

Zásobní roztoky barviv o nízké koncentraci

(zásobní 1%, k použití se silně ředí - až 0,05%

možnost rozpustit ve fyziologických tekutinách)

Druhy barvení

Intravitální - barví se normální živé buňky, přímo v těle organismu

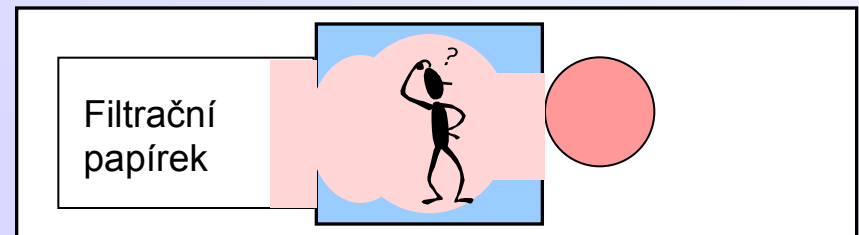
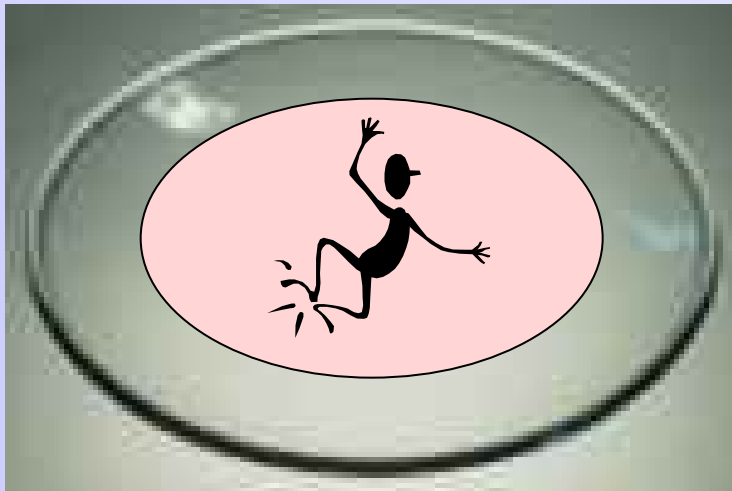
Drobné objekty se **vkládají přímo** do nízkoprocenních roztoků těchto barviv, nebo se vstříkují do živého organismu (obratlovci)

nebo tzv. **prosáváním** (bezobratlí)

Příklad:

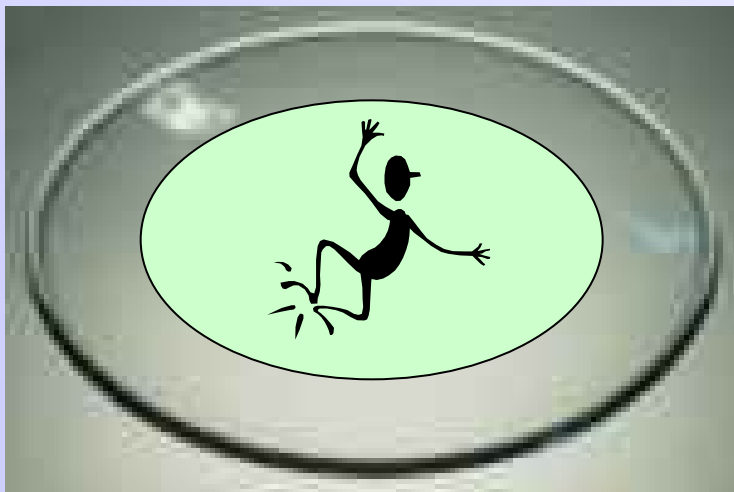
neutrální červeň - potravní vakuoly prvoků

Janusova zeleň B - mitochondrie v plasmě prvoků



Druhy barvení

Postvitální - barví se odumírající buňky



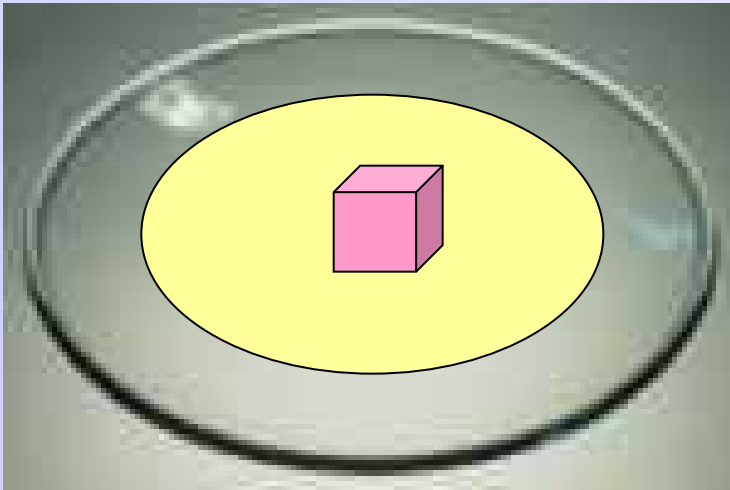
Příklad:

**metylová zeleň - makronukleus
nálevníků**

Nativní preparát, vitální barvení

Druhy barvení

Supravitální - barvíme živé buňky vybrané z těla (kousky tkáně)



„zrnková“ kultura

zpomalení pohybu

(vlákna vaty, želatina,
metylcelulóza, páry éteru,
kyselina octová)

POSTUP:

1. Na podložní sklo kápneme kapku vody s trepkami
2. vložíme rozcupovanou vatu a přikryjeme krycím sklem
3. Pozorujeme práci kontraktálních vakuol
4. Barvíme:

neutrální červení – potravní vakuoly (různé pH)

metylenovou zelení - makronukleus

Paramecium caudatum

