

## **2.Vaja: MIKROSKOPIRANJE**

### **1.Uvod:**

Pri tem laboratorijskem delu se bomo seznanili z optičnim pripomočkom- (v našem primeru) svetlobnim mikroskopom. Mikroskop nam omogoči zbiranje kvalitativnih in kvantitativnih podatkov. Poznamo več vrst mikroskopov; npr.: svetlobni, presevni elektronski in vrstični (scanning) elektronski mikroskop.

## **2. Postopek:**

Svetlobni mikroskop je priprava za opazovanje objektov, ki jih s prostim očesom ne vidimo oz. manjših od 0,01 mm. Objekt mora biti majhen, tanek in kontrasten.

### a) Preparat:

Poznamo več vrst preparatov. Lahko so trajni (za dalj časa), mokri (zelo neobstojni-zaradi bakterij), suhi, sveži,... Poznamo tudi več vrst barvil, s katerimi obarvamo npr.: jedra, kromosome,...(metilensko modrilo, acetokarmin...) Preparat pripravimo tako, da objekt opazovanja položimo na objektno stekelce (kamor smo kapnili kapljico vode oz. barvila-kar ni vedno nujno), pokrijemo s krovnim stekelcem (paziti moramo, da med krovnikom in objektom ni zraka, saj se tako posledično vidijo zračni mehurčki).

### b) Kako najdemo sliko?

1. Spustimo objektiv pri mali povečavi 0,5 cm nad preparat.
2. Makrometrski vijak vrtimo k sebi, medtem gledamo skozi okular in najdemo sliko.

### c) Kaj se zgodi s sliko pod mikroskopom?

Ugotovili smo, da se vse slike opazovane pod mikroskopom preslikajo skozi x in y os. Slika pod mikroskopom se tudi poveča in odebeli.

### d) Povečave:

V revolverju imamo pričvrščene 3 objektivne in cevko ali tubus, v katero je vložen okular. Povečavo izračunamo tako, da množimo povečavo okularja s povečavo objektiva.

Objektivi: mala povečava → 8- kratna

velika povečava → 40- kratna

imerzijska povečava → največja pov., ki je ne smemo uporabljati

Okular: 7- kratna povečava

Vedno moramo k skici pripisati še povečavo s katero smo opazovali objekt.

### e) 2r vidnega polja:

Poznamo več metod za ocenitev ali izračun premera vidnega polja.

Premer vidnega polja je pri mali povečavi največji, pri veliki povečavi je

manjši za kvocient med povečavama, pri imerzijski pa je najmanjši premer.

Metode za ocenitev ali izračun  $2r$  vidnega polja:

- ocenitev s pikico (krogcem), ki jo narišemo na papir in toliko časa prilagajamo, da se ujema s premerom vidnega polja, potem pikici izmerimo premer in le-ta se ujema z  $2r$  vidnega polja.  $2r = 2\text{mm}$  (pov.:56x)

- izračun s pomočjo rasterja z. tiskarske mrežice, ki ima nitke debele  $33\ \mu\text{m}$  in odprtine široke  $58\ \mu\text{m}$ :

Mala povečava: - število črtic: 26

- število okenc: 25  $2r = 2308\ \mu\text{m}$

Velika povečava: - število črtic: 5

- število okenc: 5  $2r = 455\ \mu\text{m}$

Imerzijska povečava: 56x pov. ....2308  $\mu\text{m}$

(jo moramo izračunati) 280x pov.....455  $\mu\text{m}$

630x pov. ....202  $\mu\text{m}$

### **3.Rezultati, komentar:** (glej prilogo 2.1)

1. Pri prvi vaji (ki obsega 3 dele) smo pod mikroskopom opazovali črke H, A in F. ugotovili smo, da se vse preslikajo tako čez x, kot tudi čez y os (česar pa vedno ne opazimo zaradi oblike črke). Slike črk se pod mikroskopom odebelijo in povečajo.

→Pri črki H preslikovanja čez x in y os ne opazimo, saj je slika črke H vedno enaka, se pa odebeli in poveča. (priloga 2.1/1)

→ Pri črki A preslikovanja čez y os ne opazimo, saj je slika črke A simetrična, tako da je preslika čez y enaka prvotni sliki. Slika se preslika čez x os in se tudi odebeli in poveča. (priloga 2.1/2)

→Pri črki F sta prisotni obe preslikovanji; čez x in y os. Slika črke F se tudi odebeli in poveča. (priloga 2.1/3)

2. Pri drugi vaji smo mikroskopirali dva različna lasa pri veliki povečavi- 280kratni (sliki smo najprej našli pri mali povečavi). Za veliko povečavo je značilna globinska ostrina, ki jo dosežemo s prilagajanjem mikrometrskega vijaka. To pomeni, da lahko enkrat izostreno vidimo zgornji las, potem prilagodimo mikrometrski vijak in tako dosežemo, da izostreno vidimo drugi las. (priloga 2.1/4)

3. Pri tretji vaji smo pod mikroskopom pri veliki povečavi- 280x kratni opazovali rastlinske in živalske celice.

a) Rastlinska celica (Elodea sp. oz. račja kuga)

Pri opazovanju rastlinske celice pri 280-kratni povečavi, smo videli celično steno, ki daje trdnost in obliko celicam, celično membrano in kloroplast, v katerem je klorofil.

Pri rastlinskih celicah je zelo pomembno, da jih skiciramo v povezavi z drugimi. (priloga 2.1/5.1)

b) Živalska celica (Paramecium sp.)

Paramecij smo opazovali pri 280-kratni povečavi, videli smo celično membrano in pa nekatere organele (jedro,...) (priloga 2.1/5.2)

#### **4. Zaključki:**

Pri tej vaji smo osvojili znanje, ki ga bomo potrebovali še pri veliko drugih vajah, zato je zelo pomembno, da znamo uporabljati mikroskop, pripraviti preparat,... Naučili smo se veliko o samem postopku mikroskopiranja, o povečavah, itd. Opazovali smo veliko objektov npr.: paramecij in spoznali njihove celične strukture natančneje in videli strukture, ki jih s prostim očesom ne vidimo.

#### **5. Literatura: /**