

Poročilo o laboratorijskem delu:

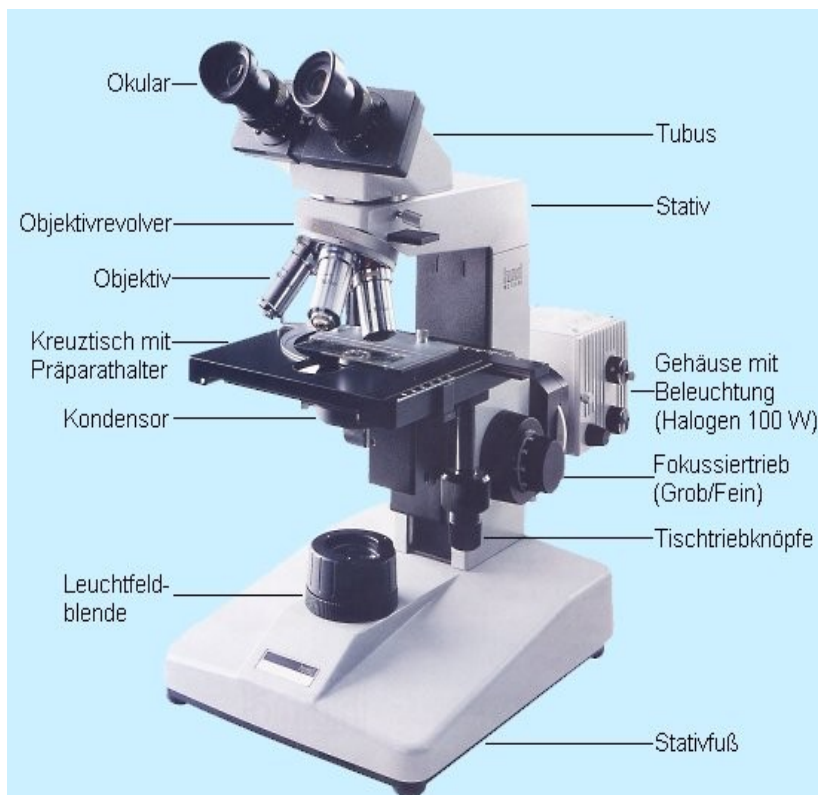
Mikroskopiranje in merjenje z mikroskopom

Uvod:

Mikroskop je optični instrument, s katerim dobimo povečano sliko zelo majhnih predmetov. Sestavljen je iz mehanskih in optičnih delov. Optični deli so leče, objektiv, okular (sliko dodatno poveča) in kondenzor, mehanski pa mikroskopska mizica. Povečavo mikroskopa izračunamo tako, da pomnožimo povečavo okularja in povečavo objektiva. Poleg povečave je pomembna tudi ločljivost mikroskopa, ki določa najmanjšo razdaljo, pri kateri še lahko razločimo dve točki. Mikroskop uporabljamo za zbiranje kvalitativnih (barva, oblika) in kvantitativnih (velikost) podatkov. V vaji se bomo seznanili s samim mikroskopiranjem in mikroskopiranjem rastlinskih, živalskih ter bakterijskih celic. Menim, da bo slika, ki jo bomo videla pod mikroskopom prezrcaljena preko obeh osi in seveda povečana.

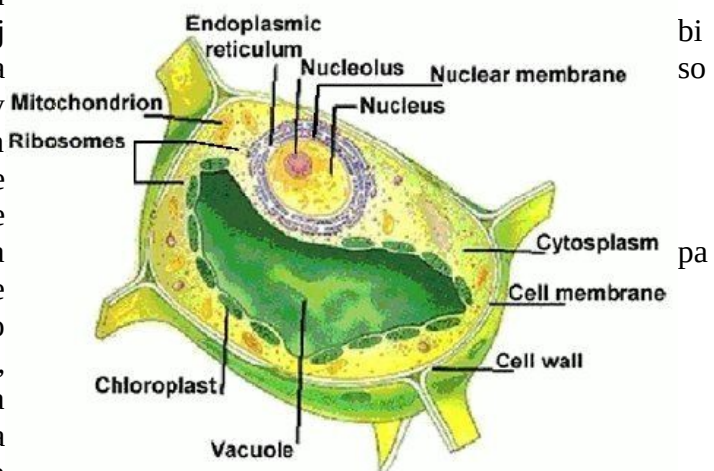
Celice gradijo vsa živa narava zato so osnovne enote življenja. En organizem lahko gradi več celic ali pa samo ena. Pri večceličnih organizmih govorimo o evkariontskem tipu celice (deli se na rastlino in živalsko celico), pri enoceličarjih pa o prokariontskem tipu celice. Med obema tipoma je kar nekaj razlik pa tudi nekaj podobnosti: rastlinske celice so v povprečju večje od živalskih, celično steno, plastide in vakuolo ima samo rastlinska celica in centriol ima samo živalska celica.

S svetlobnim mikroskopom (povečava do $2000\times$) vidimo evkariontsko celico kot vrečasto tvorbo, ki je obdana s celično membrano, izpolnjena s citoplazmo in ima celično jedro. Z elektronskim mikroskopom (povečava do $1.000.000\times$) lahko opazujemo podrobno zgradbo celičnih organelov (ribosom, lizosom, endoplazemski retikulum, Golgijev aparat, mitohondrij), ki opravljajo različne naloge.



Zgradba celice

Celična membrana obdaja celico, skozi jo prehajajo snovi v celico in iz nje. Zgrajena je iz dvojne plasti fosfolipidov (maščobe) in različnih beljakovinskih molekul. Njeno zgradbo prikazujemo z modelom tekočega mozaika. Mozaik zato, ker so beljakovinske molekule vstavljene v plast fosfolipidov kot mozaik, tekoči pa zato, ker beljakovinske molekule plavajo, se premikajo po plasti. Endoplazemski retikulum je splet prostorov, imenovanih cisterne. Na zrnatem endoplazemskem retikulumu se pojavljajo tudi ribosomi, v katerih poteka sinteza beljakovin. Te beljakovine nato po cisternah potujejo po celici. Poznamo zrnati in gladki endoplazemski retikulum. Golgijev aparat je zgrajen iz cistern, od katerih se odcepljajo mehurčki, ki potujejo do celične membrane, se tam odprejo in vsebino izpraznijo navzven. V mehurčkih se nahajajo beljakovine, povezane z ogljikovimi hidrati. Lizosomi so mehurčki, ki vsebujejo prebavne encime. Nastajajo tako, da se ločijo od Golgijevega aparata. Mitohondrij naj bi bili včasih samostojni organizmi, ki pa se vrinili v celico in z njo živijo v sožitju. Dokaz za to naj bi bil lasten DNK, na podoben način pa naj bi se razvili tudi plastidi. Imajo dve membrani; zunanja je gladka, notranja nagubana. Naloga mitohondrijev je celično dihanje. Ker imajo mitohondriji lasten DNK in ribosome, lahko v njih poteka tudi sinteza beljakovin. Kloroplasti so skupina plastidov, ki je značilna za rastlinske celice, opravljajo fotosintezo. So okrogle, lečaste strukture in imajo gladko zunanjo ter nagubano notranjo membrano. Gube notranje membrane so tilakoide. Vakuola je značilna za rastlinsko celico. Je večji prostor, obdan z membrano - tonoplast. Znotraj se nahaja celični sok. Ker rastline nimajo izločal, vse odpadne produkte kopičijo v vakuoli. S starostjo celice narašča tudi velikost vakuole. Jedro je obdano z dvema membranama - notranjo in zunanjo, ki ima ribosome in se veže na endoplazemski retikulum. V jedru se nahaja večina dednega zapisa celice. Dedni zapis je v obliki tankih nitk, imenovanih kromatin. Kromatin je sestavljen iz molekul deoksiribonukleinske kisline in beljakovin ter je videti kot mrežast preplet. Kromosomi se oblikujejo iz spiraliziranega kromatina. Jedrce je temnejši del jedra, v katerem nastajajo ribosomi.



Cilji:

- ❖ obnovitev znanja o mikroskopu in delu z njim
 - ❖ določanje velikosti povečave ter vidnega polja pri tej povečavi
 - ❖ ocena in izmera debeline lasu, velikosti pike časopisnega papirja in celic
- obnovitev znanja o tipih celic

Materiali:

Za mikroskopiranje in delo z mikroskopom:

- ❖ Mikroskop
- ❖ Listič s črkami A, H in F
- ❖ 2 različna lasa
- ❖ Košček časopisnega papirja

Za opazovanje tipov celic:

- ❖ Ustno sluznico
- ❖ Gojišče bakterij v jogurtu
- ❖ List mahu

Postopek:

- o Pri prvem delu vaje smo naredili preparate črk, milimetrskega papirja in las, da bi se seznanili z obliko in velikostjo slike, ki nam jo mikroskop posreduje. V vseh treh primerih smo predmet položili na objektno stekelce, dodali kapljico vode in vse pokrili s krovnim stekelcem. V drugem delu pa smo naredili preparate rastlinskih (mahu), živalskih oz. človeških (celice ustne sluznice) in bakterijskih celic. List mahu smo položili na objektno stekelce dodali kapljico vode in pokrili s krovnim stekelcem. Pri celicah ustne sluznice smo morali dodati kapljico fiziološke raztopine sicer bi celice počile. Da smo lahko opazovali jedra celic smo dodali še barvilo. Tretji preparat smo dobili tako da smo kapljico jogurta nanесли na objektno stekelce in jo pokrili s krovnim stekelcem.
- o Rezultate ugotavljanja povečav in velikosti vidnega polja mikroskopa smo dobili tako, da smo pomnožili povečavo okularja in povečavo objektiva zraven pa smo s pomočjo milimetrskega papirja določili premer vidnega polja ter izračunali velikosti ki jih prikazuje merilce.
- o Za opazovanje lasu smo najprej določili debelino lasu na osnovi ocene števila las ki bi jih spravili v vidno polje, nato pa smo las še izmerili s pomočjo merilca.

Rezultati:

1. Opazovanje črk

2. Rezultati računanja premerov vidnih polj pri vseh povečavah in dolžina razmakov na merilcu

Razmaki posameznih razdalj na merilcu pri vseh povečavah:

Razdalje	Mala povečava (40X)	Srednja povečava (100X)	Velika povečava (400X)
A	625	250	62,5
B	125	50	12,5
C	25	10	2,5

Tabela 1

3. Rezultati mikroskopiranja lasu pri vseh povečavah

4. Rastlinska celica (mah)

5. Bakterijska celica (jogurt)

6. Človeška celica (ustna sluznica) v fiziološki raztopini in barvilu

Razprava:

Z laboratorijsko vajo smo obnovili in ponovili svoje predznanje mikroskopiranja. Določili smo povečave mikroskopa. Povečave so dokaj zanesljive, saj smo jih izračunali s pomočjo podatkov na objektivu in okularju, kjer so zapisane povečave teh delov mikroskopa. Podatki o velikostih vidnega polja in vrednostih na merilnem pripomočku so manj zanesljivi, saj so vrednosti zgolj ocene. Te ocene smo pridobili tako, da smo mikroskopirali milimetrski papir in primerjali vrednosti kazala z velikostjo kvadratka, ki je meril 1 mm. Opazili smo, da so bili podatki o oceni debeline lasu precej različni. Ker smo preparat naredili tako, da smo prekržali dva lasa smo lahko videli, da mikroskop kaže tudi globinsko sliko, ker slike obeh lasov pri veliki povečavi nismo mogli izostriti. Mikroskopirali smo tudi časopisni papir in ugotovili velikost pike, ki jo natisne tiskalnik. Velikost pike smo ugotavljali na dva načina. Prvič smo prešteli število pik, ki jih še lahko spravimo v vidno polje in nato izračunali velikost ene pike. Druga pot pa je bila, da smo velikost pike enostavno izmerili z merilcem v okularju. Ugotovili smo, da je pika velika približno 150 μm . Pri mikroskopiranju lasu so ocene kar precej odstopale od meritev, ki pa vseeno niso dale povsem natančnih rezultatov, saj na izmero kljub vsemu vpliva tudi subjektivno mišljenje. Napake pri ocenjevanju debeline oz. velikosti so verjetno manjše pri večjih povečavah, saj iz slike lažje razberemo podatke. Ko smo mikroskopirali celice smo upoštevali prej pridobljene podatke in določili njihovo velikost. Videli smo tudi, da mikroskop res kaže globinsko sliko saj se tudi tu ni dalo izostriti vseh celic mahu.

Zaključki:

- ✓ Celice delimo na Prokariontski in evkariontski tip (rastlinske in živalske celice)
- ✓ Mikroskop prikaže sliko, ki je: zrcalna čez x in y os, povečana in globinska.
- ✓ Objekte, ki jih opazujemo lahko izmerimo s pomočjo merilca ali z računanjem

Literatura:

- ❖ Zapiski in navodila pri pouku
- ❖ Navodila za laboratorijsko delo; Ljubljana DZS; 2003
- ❖ Biologija 1: Celica; Ljubljana DZS: 1997
- ❖ <http://www.mikroskopie.de/kurse/dunkelfeld/grafiken/mikroskoph600.jpg> (04.11.2006)
- ❖ <http://sl.wikipedia.org/wiki/Celica> (04.11.2006)
- ❖ <http://www.coolcell.blogspot.com/> (05.11.2006)
- ❖ Biologija, shematski pregledi/ W. R. Pickering; prevod Aleš Sojar/ 2. natis/ Ljubljana : Tehniška založba Slovenije, 2002