

Практична робота 2

ТЕМА: «Оптичні прилади і техніка роботи з мікроскопами»

Мета роботи: Вивчити та засвоїти будову мікроскопа та інших оптичних приладів, приготувати тимчасові мікропрепарати рослинних об'єктів.

Матеріали та обладнання: підручники, електронні інформаційні ресурси, довідники.

ТЕОРЕТИЧНІ ВІДОМОСТІ

Для проведення мікроскопічного аналізу необхідно мати відповідні оптичні прилади, апаратуру, посуд, дрібний інструментарій та навчальний матеріал.

Оптичні прилади. Основними оптичними приладами для фіто патологічних дослідів є світлові мікроскопи. У даний час для лабораторно-практичних занять використовують мікроскопи МБР-1, Біолам – С і ін.

Світловий мікроскоп - це оптичний інструмент, призначений для дослідження об'єктів, невидимих неозброєним оком. Світлові мікроскопи можна розділити на дві основні групи: біологічні та стереоскопічні. Біологічні мікроскопи також часто називають лабораторними, медичними - це мікроскопи для дослідження тонких прозорих зразків у світлі, що проходить. Біологічні лабораторні мікроскопи мають велике збільшення, найбільш поширене - 1000x, але деякі моделі можуть мати збільшення до 1600x.

Стереоскопічні мікроскопи використовують для дослідження непрозорих об'ємних об'єктів (монет, мінералів, кристалів, електросхем і т. д.) у відбитому світлі. Стереоскопічні мікроскопи характеризуються невеликим збільшенням (20x, 40x, деякі моделі – до 200x), але при цьому вони створюють об'ємне (тривимірне) зображення об'єкта дослідження. Цей ефект дуже важливий, наприклад, під час дослідження поверхні металу, мінералів і каменів, оскільки дозволяє виявити заглиблення, тріщини та інші елементи структури.

Складові мікроскопа: Окуляр. Насадка, Штатив, основа, револьверна головка, об'єктиви. координатний столик, предметний столик, конденсор з ірисовою діафрагмою, освітлювач, перемикач (вкл./вимк.). гвинт макрометричного (грубого) фокусування, гвинт мікрометричного (точного) фокусування.

При денному освітленні мікроскоп встановлюється так, щоб на дзеркало не потрапляли прямі промені сонячного світла. При недостатньому освітленні необхідно використовувати спеціальні освітлювачі, які дають рівномірне освітлення препарата. При електричному освітленні в тримач під столиком мікроскопа вставляють світло-синій світлофільтр з матового скла. Якщо джерело світла розміщено далеко, користуються плоским дзеркалом. Ступінь освітлення поля зору мікроскопа регулюють діафрагмою.

Препарат розміщують на предметний столик і за допомогою мікрометричного гвинта опускають тубус до тих пір, доки не буде видно поверхню скла з препаратом.

Дивлячись в мікроскоп і повільно піднімаючи тубус, відшуковують потрібний об'єкт. Потім за допомогою гвинтів предметного столика його переводять у центральне положення поля зору мікроскопа і, повертаючи мікроскопічний гвинт, досягають чіткого зображення.

Починають мікроскопування завжди при малому збільшенні (окуляр 15, об'єктив 8), потім переводять на збільшення, користуючись об'єктивом 40.

Окулярний мікрометр – це округла скляна пластинка з шкалою, на якій 1 см розділений на 100 рівних частин.

Об'єктивний мікрометр – це скляна пластинка, в центрі якої 1 мм її довжини розділений на 100 рівних частин. Відповідно, 1 поділка об'єктивного мікрометра дорівнює 0,01 мм, або 10 мкм.

За допомогою окулярного мікрометра проводять лінійне вимірювання мікроскопічних об'єктів. Перш ніж користуватися окулярним мікрометром, необхідно визначити ціну однієї його поділки, тобто яка кількість поділок розташована у визначеній кількості поділок об'єктивного мікрометра.

Для порівняння мікрометрів відкручують верхню лінзу окуляра, розміщують на округлу діафрагму поділками вниз окулярний мікрометр і загвинчують лінзу. Об'єктивний мікрометр розміщують на столик мікроскопа, мікроскоп наводять на фокус і, коли буде видно обидві лінійки (об'єктивна і окулярна), встановлюють їх так щоб ліві крайні лінії обох мікрометрів співпадали. Якщо при цьому, наприклад, 4 поділки об'єктивного мікрометра співпали із 20 поділками окулярного, тоді кожна поділка об'єктивного мікрометра рівна 10 мкм, а 4 його поділки – 40 мкм, визначають, що 1 поділка окулярного мікрометра = 2 мкм. Визначивши ціну поділки окулярного мікрометра, об'єктивний замінюють досліджуванним препаратом і виконують його заміри.

Малювальний (рисувальний) апарат РА – 4, використовують для малюнків зображення видимих під мікроскопом і представляє собою малювальний окуляр з невеликою скляною призмою і округлим темним склом для затемнення. Він дозволяє одночасно бачити у мікроскоп препарат і його контур на листку паперу.

Апаратура.

Сушильну шафу використовують для стерилізації сухим жаром хімічного посуду.

Термостат необхідний для пророщування насіння з метою виявлення зараження, обробки поживних середовищ. За допомогою терморегулятора в термостаті протягом тривалого часу можна підтримувати певну температуру.

Апарат Коха використовується для стерилізації поживних середовищ парою.

Автоклав використовують для стерилізації поживних середовищ насиченою парою під тиском.

Центрифуга використовується для зсідання частинок які знаходяться у рідині у підвішеному стані. При швидкому обертанні всі частинки що знаходяться в рідині, у тому числі спори грибів, в результаті дії центр обіжної сили опускаються на дно приладу, утворюючи осад. Центрифуги бувають відкриті, закриті, ручні і електричні.

На *водяній бані* розігрівають поживні середовища.

ПРИГОТУВАННЯ МІКРОСКОПІЧНИХ ПРЕПАРАТІВ.

Мікроскопічні препарати готують *тимчасові* і *постійні*

Тимчасові препарати виготовляють двома способами: перенесенням поверхневого нальоту або спороношення і плодові тіла грибів на предметне скельце препарувальною голкою або виготовленням зрізу через уражену тканину рослин.

Перший спосіб застосовують, коли за допомогою голки або скальпеля можна легко зняти з живих рослин або поживних середовищ плодові тіла, грибницю або спороношення. Для пом'якшення, просвітлення і обезводнення живих об'єктів або гербарного матеріалу використовують хлоралактофенол (хлоралгідрат – 2 частини по масі, фенол – 1 частина і молочна кислота - 1 частина).

Другий спосіб застосовують у тих випадках коли грибниця або спороношення гриба знаходяться всередині тканин рослин, при вивченні будови плодових тіл і деформації тканин. У заготовлені кусочки серцевини стебел сухої бузини або соняшника, розрізані вздовж навпіл, або надрізи пінопласту закладають вирізані кусочки ураженої тканини рослини і роблять тонкий зріз. Після цього бузину відділяють від зрізу.

На чисте предметне скельце піпеткою або кінчиком скляної палички наносять краплю дистильованої або свіжо кип'яченої води і переносять зішкряб або зріз. Після цього краплю обережно покривають покривним скельцем і препарат розглядають під мікроскопом. Крапля води не повинна виходити за межі покривного скельця. При необхідності об'єкти що розглядаються освітлюють шляхом вимочуванням води фільтрувальним папером і нанесенням на предметне скло з матеріалом двох крапель молочної кислоти або розчину підігрітого лугу.

Для виявлення міцелію або частин спороношення грибів в тканинах рослин-господарів використовують забарвлення. Рідину препарату висушують фільтрувальним папером і замінюють її необхідною фарбою. Через 0,5 – 5 хвилин фарбу вимочують фільтрувальним папером і препарат промивають водою або спиртом, доки рідина не стане світлою, після чого покривають покривним скельцем і розглядають під мікроскоп. Для забарвлення фіксованих препаратів використовують анілінову синьку чи йод.

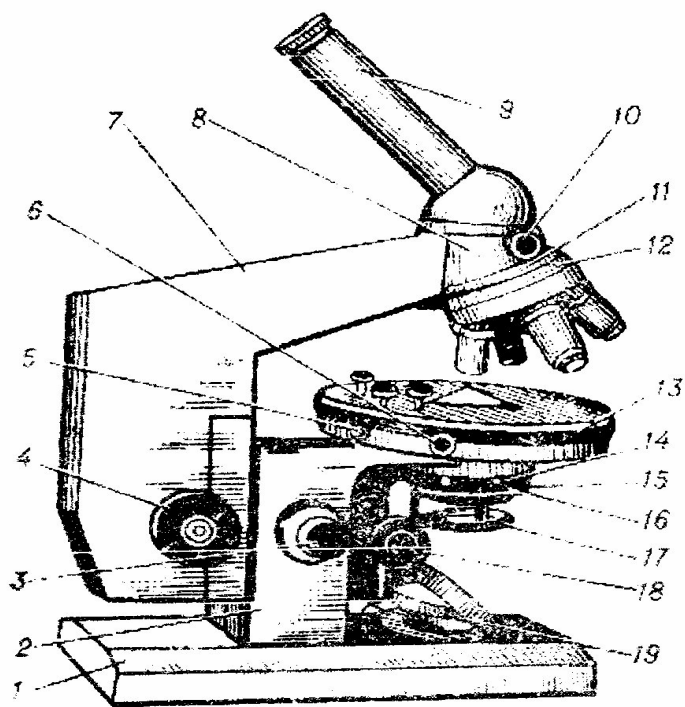
Для приготування *постійного препарату* виготовлений мікроскопічний препарат занурюють у гліцерин-желатин, який складається із 1 частини желатину. 4 частини нерозбавленого гліцерину 2-3 частин води, слідів тимолу або фенолу, чи саліциловокислого натрію. Спочатку желатин заливають водою і залишають до повного набухання. Через 12 годин, підігріваючи колбу з желатином, вливають гліцерин і додають фенол на кінчику скальпеля для просвічування суміші додають 1 білок курячого яйця на 1 літер суміші. Спочатку білок розчиняють у невеликій кількості охолодженої суміші, після чого вливають в іншу теплу суміш, ретельно перемішуючи для отримання однорідної маси. Осад відфільтровують через вату за допомогою лійки для гарячого фільтрування, і прозорий гліцерин-желатин розливають по пробірках, які закривають резиновими або корковими пробками. При необхідності гліцерин-желатин розріджують, занурюючи пробірку у теплу воду. Під час приготування препаратів

краплю гліцерину-желатину переносять на предметне скельце скляною паличкою. Досліджуваний об'єкт розміщують на краплю і накривають покривним скельцем.

ХІД РОБОТИ

Завдання:

1. Ознайомитися із роботою оптичних приладів і технікою мікроскопування.
2. Засвоїти правила роботи з мікроскопом та методику приготування тимчасових мікропрепаратів рослинних об'єктів.



- 1-
- 3-
- 5-
- 7-
- 9-
- 11-
- 13-
- 15-
- 17-
- 19-

- 2-
- 4-
- 6-
- 8-
- 10-
- 12-
- 14-
- 16-
- 18-

1. Заповнити таблицю.

Системи мікроскопа		
Механічна	Оптична	Освітлювальна

2. Занотувати правила роботи з мікроскопом.

3. Занотувати методуку виготовлення мікропрепаратів.

Контрольні питання

1. Складові мікроскопа.
2. Які ви знаєте оптичні прилади?
3. Як приготувати тимчасові мікропрепарати рослинних об'єктів?
4. Техніка мікроскопування.
5. Які є збільшення на оптичних приладах?

Література

Ботаніка. Підручник. / Б.Є. Якубенко, І.М. Алейніков, С.І. Шабарова, С.П. Машковська. Київ : Видавництво Ліра-К, 2018. 436 с.

Неведомська Є. О. Маруненко І. М., Омері І. Д. Ботаніка : навчальний посібник. К.: «Центр учбової літератури», 2013. 218 с.

Ботаніка: навчальний посібник для вступників до закладів вищої освіти / А. С. Машевська, Т. М. Єрмейчук, Іванців О. Я. Луцьк: ПП Іванюк В.П., 2020. 181 с.

Дячук П.В. Перфільєва Л.П. Ботаніка: підручник. Умань: ФОП Жовтий О. О. 2015. 206 с.

Бобкова І. А., Варлахова Л. В. Ботаніка. Підручник. Київ : ВСВ «Медицина», 2015. 304 с.

Кучерява Л. Ф. Систематика вищих рослин. - в II ч. - Ч. I. Архегоніати. / Л. Ф. Кучерява, Ю. О. Войтюк, В. А. Нечитайло. К. : Фітосоціоцентр, 1997. 136 с.

Мусієнко М. М. Екологія рослин: підруч. К. : Либідь, 2006. 432 с.

Нечитайло В. А., Кучерява Л. Ф. Ботаніка. Вищі рослини. К. : Фітосоціоцентр, 2005. 431 с.