

# 1. cvičení

## Bezpečnost práce a pravidla práce v biologické laboratoři

1. Všeobecná ustanovení: - konat pouze práce zadané vedoucím kurzu nebo jeho zástupcem
  - zákaz jídla, pití a kouření v laboratoři (kouřit nelze v celé budově A)
  - před odchodem odpojit elektrické spotřebiče ze sítě, vypnout hlavní jistič pro laboratoř
2. Zacházení s pracovními pomůckami, chemikáliemi, náradím:
  - lahve s chemikáliemi musí být vždy označené, po použití vracet na místo
  - s pomůckami i biologickým materiálem zacházet šetrně, pomůcky používat pouze k účelu, k němuž jsou určeny, neodnášet je z laboratoře
  - při odchodu uklidit pracovní místo, lupy i mikroskopy vrátit na místo a zakrýt igelitem, čisté nástroje vrátit do pracovní sady a odevzdat
3. Základní pravidla první pomoci: veškerá zranění ihned hlásit
4. Pokyny pro hašení požáru, umístění hlavních uzávěrů, hasicích přístrojů

## Zápočet

Maximálně jedna absence z pěti cvičení bez omluvy (možnost náhrady s jinou skupinou, bude-li tam volno)

Protokoly, vyznat se v nich, budou-li na volných papírech, podepsat. Odsouhlasené dozírajícím vyučujícím.

Test z teorie

Umět zacházet s mikroskopem

## Co s sebou nosit

Nelinkované papíry velikosti A4 nebo nelinkovaný sešit, tužka 2, guma

## Materiály, z nichž čerpá tento kurz

Habrová V. (1981): Biologická technika

Ruzin S. E. (1999): Plant microtechnique and microscopy

Lacey A.J. (1999): Light microscopy in biology

Pazourek J. et Votrubová O. (1997): Atlas of plant anatomy

Slonim D. (2006): Optický mikroskop, základní údaje

www stránky firmy Olympus

jednotlivé obrázky z www stránek z učebních textů fyziky z různých fakult, patologického oddělení nemocnice v Jablonci nad Nisou apod.

www stránky Dr. Nebesářové týkající se elektronové mikroskopie

## Práce v biologické laboratoři

Čistě laboratorní obory (molekulární biologie, fyziologie, většina genetiky, mikrobiologie...), převážně terénní obory (ornitologie a řada dalších zoologických oborů, floristika, geobotanika, část ekologie; v terénu sběr dat, pod střešou jejich zpracování, četba literatury, příprava publikací), smíšené obory (např. některé ekologické experimenty a pozorování jsou terénní, jiné v zahradních, skleníkových až klimaboxových podmínkách, někdy se v terénu odeberou vzorky, ale jejich další zpracování je laboratorní – např. v mykologii, systematice, části ekologie, v řadě zoologických oborů).

Metody používané v biologické laboratoři: matematické (počítání, statistické zpracování dat), fyzikální (vážení, měření...), chemické (extrakce různých chemických složek organismů, půdy, příprava substrátů, speciální barvicí metody ...), specificky biologické (např. anatomické studie ...).

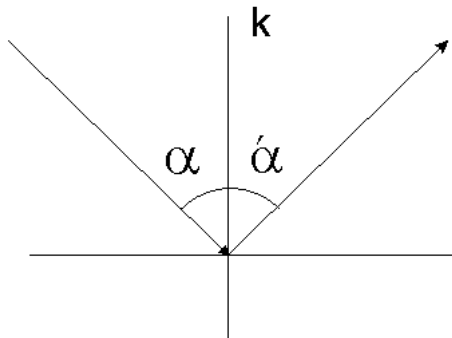
Živé organismy jsou součástí hierarchie biologických systémů od biomů a společenstev na jedné straně až po buňky, orgány a molekuly na straně druhé. Každá úroveň sestává z úrovní nižších, ale má také své specifické, kvalitativně nové vlastnosti. Při práci s biologickými systémy na jakékoli úrovni bychom měli maximálně respektovat jejich svébytnost.

Řada metod používaných v jednotlivých oborech je velmi specifická, vyžaduje speciální vybavení a různě časově náročné zaškolení. Některé metody se používají napříč celou biologií. Jejich pochopení a zvládnutí se považuje za základní dovednost každého biologa a při další specializaci se přidávají a vybrušují metody specifické, náročné a drahé. Do této základní výbavy bezesporu patří schopnost pracovat s mikroskopem tak, aby nebyly poškozeny ani studované objekty, ani drahá optika. Uživatel by měl získat představu, co může od mikroskopické techniky očekávat. A to bude hlavní náplní tohoto praktika.

## Základy optické mikroskopie

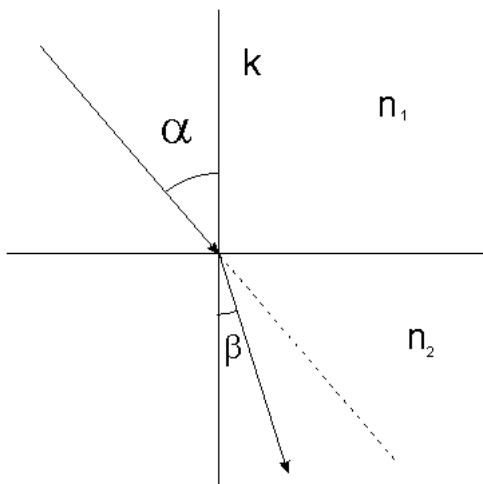
### Optické principy

Pro začátek vyjdeme ze zákonů **geometrické optiky**, která zanedbává vlnovou povahu světla. Je založena na principu nezávislosti světelných paprsků, přímočarém pohybu světla, na zákonech odrazu a lomu. Světelný paprsek si představíme jako čáru, podle které se šíří světelná energie. Narazí-li paprsek na optické rozhraní s prostředím o jiných optických vlastnostech, dojde buď k jeho odrazu nebo lomu. Při **odrazu** (například od zrcadla) platí, že paprsek dopadající a odražený leží v jedné rovině a že úhel odrazu se rovná úhlu dopadu (Obr.1).



Obr. 1 ([www.fyzika.webz.cz/index.php?clanek=9&title=Optika](http://www.fyzika.webz.cz/index.php?clanek=9&title=Optika))

Narazí-li paprsek na prostředí, kterým může dále procházet, ale které má odlišné optické vlastnosti než prostředí původní, dochází k jeho **lomu** (Obr. 2). Kromě toho, že paprsky dopadající a lomené leží v téže rovině, platí při lomu také pravidlo, že při přechodu do prostředí „opticky hustšího“ se paprsek láme směrem ke kolmici lomu a při přechodu do "opticky řidšího" prostředí směrem od této kolmice.



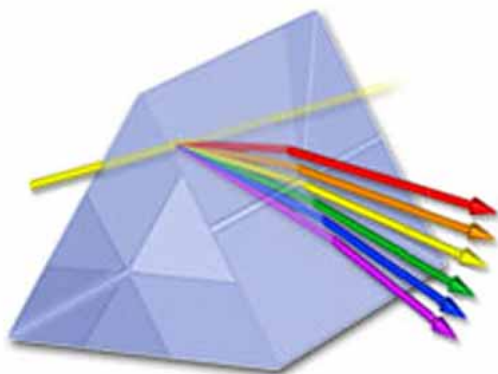
Obr. 2 ([www.fyzika.webz.cz/index.php?clanek=9&title=Optika](http://www.fyzika.webz.cz/index.php?clanek=9&title=Optika))

**Optická hustota prostředí** je pojem relativní a vyjadřuje, zda se světlo v daném prostředí pohybuje rychleji (prostředí opticky řidší) nebo pomaleji (prostředí opticky hustší) než v původním prostředí. Pro možnost porovnání optických vlastností různých prostředí (médii) se používá srovnání rychlosti ( $c$ ) šíření světla v daném médiu oproti jeho šíření ve vakuu. Tato relativní veličina se nazývá **index lomu** ( $n$ ) a je definována jako

$$n_m = c_{vac} : c_m$$

kde *vac* značí vakuum a *m* médium. Ve vzduchu se světlo pohybuje podobně rychle jako ve vakuu, ale voda je zbrzdí o čtvrtinu ( $n$  je tedy rovno asi 1.3) a sklo, v závislosti na složení, o 33 až 42% ( $n$  je tedy mezi 1.5 – 1.72).

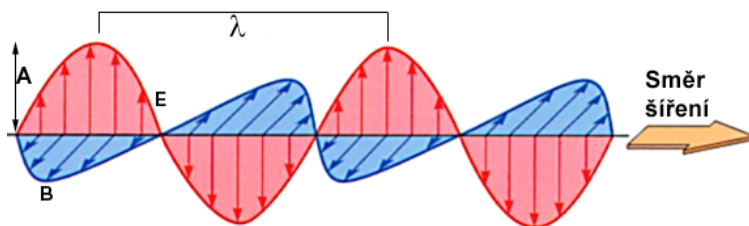
Podstatnou vlastností světla také je, že světlo o různé vlnové délce (a tedy barvě) se bude lámat pod různým úhlem. To lze pozorovat např. při průchodu úzkého svazku paprsků „bílého“ světla skleněným hranolem (Obr. 3), kdy se od původního směru nejméně odchýlí paprsky větších vlnových délek (červené) a nejvíce se odchýlí paprsky o nejkratší vlnové délce (fialové).



Obr. 3 ([www.olympusmicro.com/primer/lightandcolor/refractionintro.html](http://www.olympusmicro.com/primer/lightandcolor/refractionintro.html))

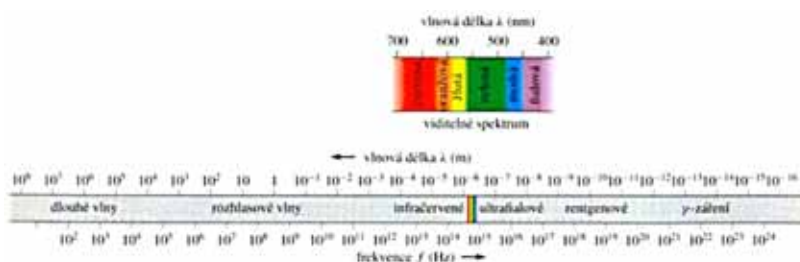
Při průchodu světla skleněnou destičkou s rovnoběžnými stěnami (**planparalelní destička**) se světlo láme dvakrát. Při vstupu do skla (prostředí opticky hustší) se paprsky lámou ke kolmici, při výstupu ze skla od kolmice. Při tom platí, že vystupující paprsek je rovnoběžný s původním paprskem. Příkladem planparalelních destiček jsou podložní a krycí skla používaná při mikroskopování.

Vznik obrazu pomocí mikroskopu nelze vysvětlit jen pomocí geometrické optiky, je třeba vycházet z **vlnové povahy světla**. Viditelné **světlo** je částí rozsáhlé oblasti elektromagnetického záření. Můžeme si je pro zjednodušení představit jako příčné vlnění, které je složené z postupných kmitů vedle sebe ležících bodů (Obr. 4).



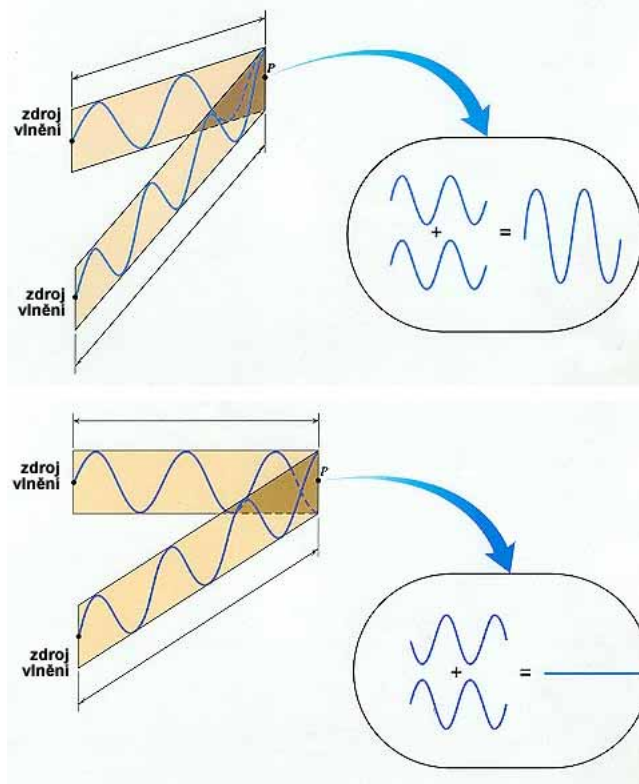
Obr. 4 (<http://sol.sci.uop.edu/~jfalward/lightinterference/lightinterference.html>)

Na vlně můžeme rozlišit její **délku  $\lambda$**  (vzdálenost dvou po sobě jdoucích vrcholů) a výšku - neboli **amplitudu  $A$**  (největší odchylka kmitající částice z rovnovážné polohy). Různou vlnovou délku vnímáme jako světlo různých barev (Obr. 5), s rostoucí amplitudou se zvyšuje intenzita světla.



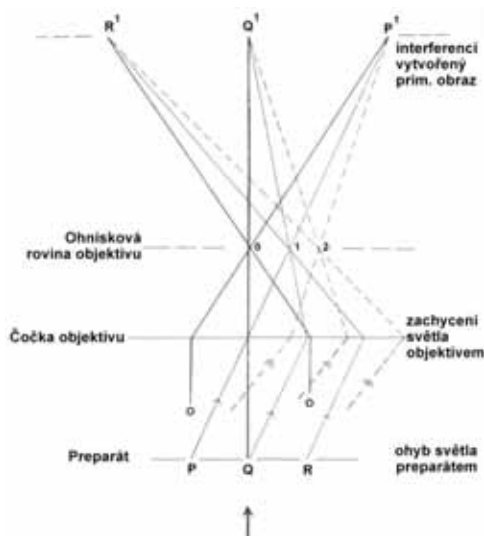
Obr. 5 ([bfu.lf2.cuni.cz/evzen/Optika3.ppt](http://bfu.lf2.cuni.cz/evzen/Optika3.ppt))

Setkají-li se dvě světelná vlnění, nastává jejich skládání neboli **interference** (Obr. 6). Pokud jsou vrcholy obou vlnění ve stejných místech vzhledem ke směru šíření světla, jsou obě vlnění ve stejné fázi a výsledná amplituda je součtem jejich amplitud. Pokud jsou vrcholy vlnění vzájemně posunuty, hovoříme o **fázovém posunu**.



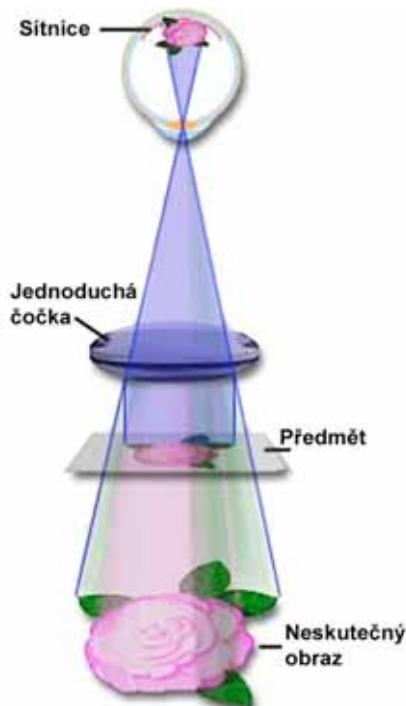
Obr. 6 (<http://sol.sci.uop.edu/~jfalward/lightinterference/lightinterference.html>)

Když světlo narazí na překážku, která má přibližně stejnou velikost jako je velikost vlnové délky světla (stovky nanometrů), dochází k **ohybu světla**. Zmíněné překážky fungují jako nový zdroj elektromagnetického vlnění, to znamená, že světlo, které se za nimi šíří, se šíří všemi směry. Pokud tomuto nově emitovanému záření postavíme ve vhodné vzdálenosti do cesty sběrnou čočku, bude zachycenou část vlnění soustřeďovat do obrazu za čočkou (Obr. 7). Obraz je tím kvalitnější, čím širší kužel světla emitovaný objekty v preparátu je čočka schopná zachytit.



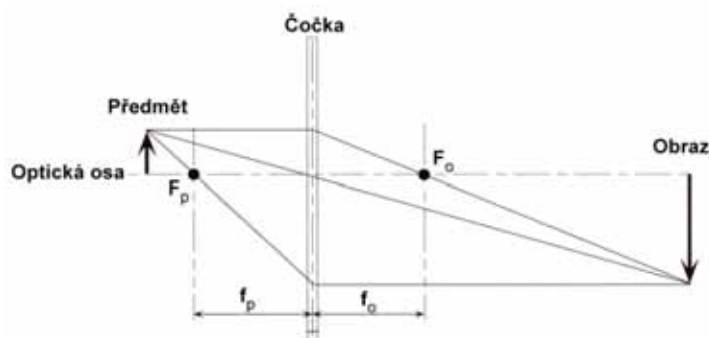
Obr. 7 (Lacey)

Při pozorování objektu pouhým okem je velikost obrazu na sítnici omezena tím, jak blízko k oku můžeme objekt umístit. Tato vzdálenost nazývaná **vzdálenost nejjasnějšího (nejostřejšího) vidění** je zhruba 25 cm. Umístíme-li objekt blíže, nejsme schopni na něj dostatečně zaostřit a oko je nadměrně namáháno. Při pozorování dvou bodů jsme schopni rozlišit, že jde o dva samostatné body, pokud je mezi nimi určitá minimální vzdálenost. Ta odpovídá úhlu mezi paprsky procházejícími těmito body do oka, a tento úhel musí být minimálně  $1'$ . Proto, chceme-li dva příliš blízké body rozlišit, musíme tento úhel zvětšit. Jedna možnost, jak toho dosáhnout, je umístit před oko čočku (Obr. 8). Oko potom vnímá zvětšený obraz ležící za objektem (neskutečný).



Obr. 8 (<http://www.olympusmicro.com/primer/anatomy/magnification.html>)

V optických přístrojích jako jsou lupy a mikroskopy prochází světelné paprsky souborem **čoček**. To jsou průhledná tělesa, nejčastěji skleněná, o odlišném indexu lomu než okolí, ohraničená vypuklými či vydutými plochami. Podle zákonů geometrické optiky se paprsky probíhající rovnoběžně s optickou osou lámou čočkou do **ohniska** (F). Vzdálenost ohniska od roviny proložené středem čočky kolmo k optické ose se nazývá **ohnisková vzdálenost** (f).

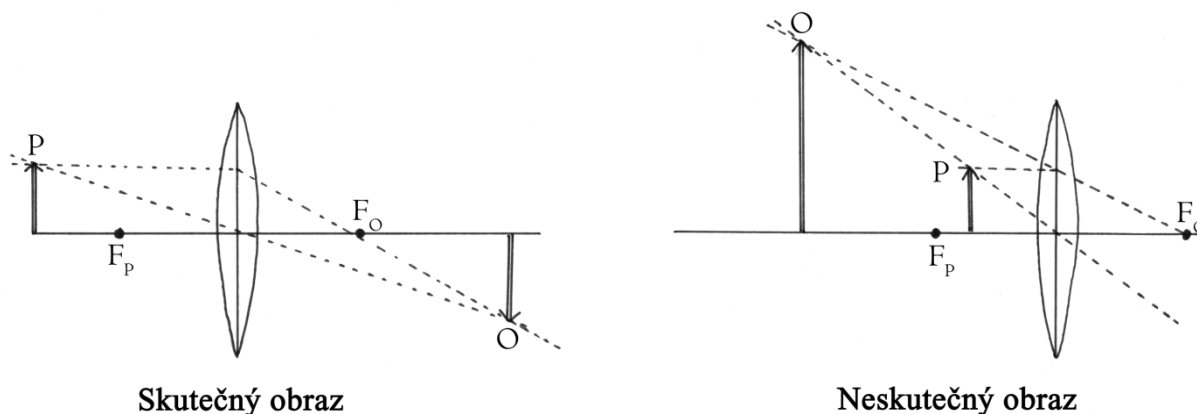


Obr. 9 (Ruzin, 254)

Při konstrukci obrazu vytvořeného čočkou platí tato pravidla (Obr. 9):

1. paprsek rovnoběžný s optickou osou se láme do obrazového ohniska
2. paprsek procházející středem čočky se neláme
3. paprsek procházející předměťovým ohniskem se láme rovnoběžně s optickou osou

Pokud se vytváří obraz sledovaného objektu v prostoru před čočkou (tj. na té straně, kde pozorovaný předmět leží), hovoříme o **neskutečném obrazu**, pokud se vytváří za soustavou, jde o **obraz skutečný** (Obr. 10). Na rozdíl od neskutečného obrazu, je možné obraz skutečný promítnout na stínítko nebo zachytit na film.



Obr. 10

## Složené mikroskopy

Podívejme se zpátky **do historie na vývoj a využití optických soustav**.

Zvětšující schopnost skleněné koule naplněné vodou byla známa již v antice v době Seneky, ale až ve 13. století se objevuje použití jednoduché skleněné čočky (v díle Bacona Opus Majus) v podobě skleněné polokoule nebo krystalu za účelem zvětšení malých písmen. Další tři a půl století trvalo, než Giovanni Battista della Porta použil dvě čočky v tandemu ke znásobení zvětšení (1589).

Revolučním počinem pro chápání světa obklopujícího člověka a pro uvědomění si omezenosti lidských schopností bylo sestrojení dalekohledu a mikroskopu na přelomu šestnáctého a sedmnáctého století. Zatímco dalekohled umožnil pohlédnout do hlubin vesmíru a odhalit dosud netušené množství nových hvězd a planet, mikroskop odhalil člověku zcela neznámý svět miniaturních organismů a tvarů. Za otce dalekohledu je bezesporu považován Galileo Galilei. Zřejmě byl i blízko sestrojení mikroskopu, ale za jeho kolébku se nakonec považuje Holandsko, kde je prvenství připisováno optické firmě rodiny Janssenových (1590).



Obr.11 (<http://www.olympusmicro.com/primer/anatomy/introduction.html>)

Po většinu 17. století byl mikroskop používán lepší společností jako kratochvilná hračka a ve vědeckém světě se prosazoval jen velmi zvolna. Mezi průkopníky využití mikroskopu patří Anthony van Leeuwenhoek (objev prvoků, kvasinek, spermií a bakterií) a Robert Hook (zavedl pojem buňka).



Obr.12 (<http://www.olympusmicro.com/primer/anatomy/introduction.html>)

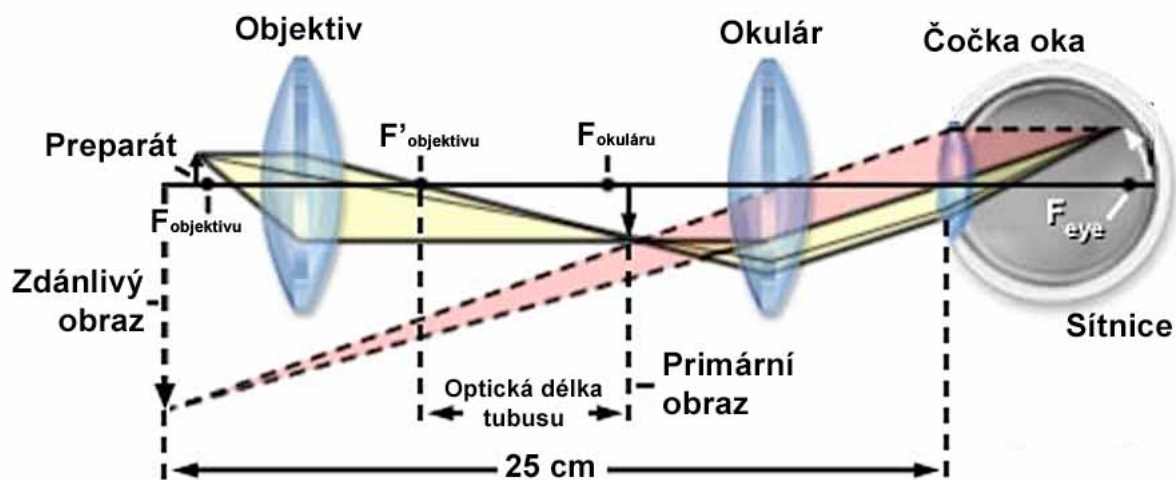
Přibývající počet vědeckých prací využívajících mikroskop pro studium stavby mnohobuněčných organismů i jednobuněčných rostlin a živočichů vyústil ve formulaci buněčné teorie (Schwann a Schleiden, 1839).



Obr. 13 (<http://www.olympusmicro.com/primer/anatomy/introduction.html>)

Jak tedy funguje složený mikroskop?

„Složenost“ spočívá v následném zařazení dvou optických soustav – systému objektivových čoček a systému okulárových čoček. Pro zjednodušení si představíme jednu čočku objektivovou a jednu okulárovou (Obr. 14). **Objektivová čočka** má velmi krátkou ohniskovou vzdálenost. Vzájemná poloha objektivu a okuláru je nastavena tak, že nachází-li se sledovaný objekt mezi dvojnásobnou ohniskovou vzdáleností a předmětovým ohniskem objektivové čočky, vzniká po průchodu světla objektivem zvětšený, převrácený a skutečný „primární“ obraz mezi **čočkou okuláru** a jejím předmětovým ohniskem.



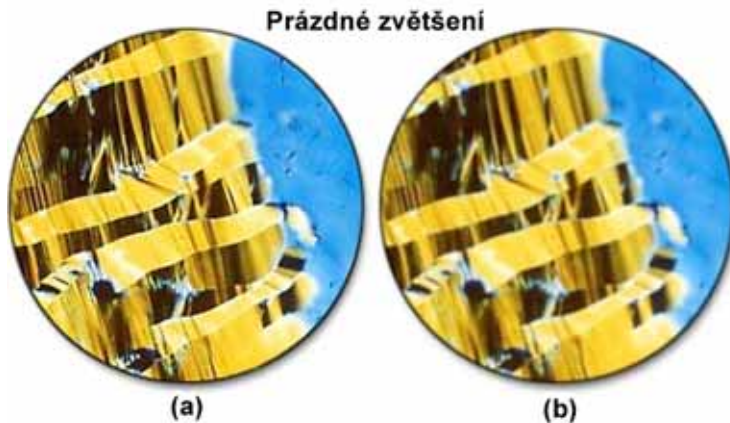
Obr.14 (<http://www.olympusmicro.com/primer/anatomy/components.html>)

Na tento primární obraz se pak díváme okulárem, který použijeme vlastně jako zvětšovací lupu. Primární obraz se tak stává objektem pro sledování okulárem. Okulár tento obraz dále zvětšuje, ale již ho nepřevrací a promítá jej na předmětovou stranu okulárové čočky, je tedy zdánlivý (neskutečný). Konečný obraz, který vnímá naše oko, je oproti původnímu objektu tedy zvětšený, převrácený a zdánlivý, a vnímáme jej, jako by objekt byl ve vzdálenosti nejosřejšího vidění.

Při výpočtu **celkového zvětšení**, kterého jsme při pozorování v mikroskopu dosáhli, bereme v úvahu zvětšení objektivu, zvětšení okuláru a navíc tzv. **faktor tubusu** (nebo optickou délku tubusu), který zohledňuje vzdálenost mezi obrazovým ohniskem objektivu ( $F'_{\text{objektivu}}$ ) a místem, kde se tvoří primární obraz. Tato



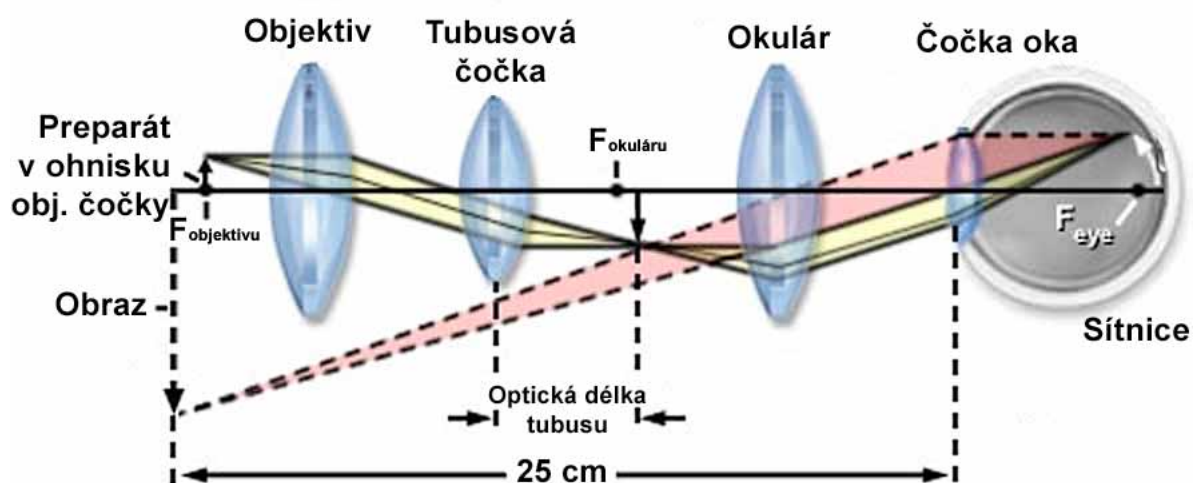
vzdálenost se mezi různými výrobci liší. Jak vidíme, můžeme dosáhnout stejného výsledného zvětšení buď silnějším objektivem a slabším okulárem nebo naopak. Důležité je si ale uvědomit, že jako objekt pro okulár slouží primární obraz vytvořený objektivem, takže okulár může zvětšit vzdálenost mezi body tohoto svého objektu, nemůže ale již rozlišit nové detaily, které nebyly zobrazeny objektivem (hovoříme o tzv. prázdném zvětšení, Obr.15). Proto dáváme přednost kombinaci **silnějšího objektivu se slabším okulárem** a opačné kombinace používáme např. při počáteční orientaci na sklíčku.



Obr. 15 (<http://www.olympusmicro.com/primer/anatomy/magnification.html>)

Na obrázku 15 je zvětšená krystalická DNA. Celkové zvětšení je v obou případech stejné, ale v prvném případě byl použit 5x silnější objektiv.

Moderní mikroskopy mají odlišný design, kdy objektivy nevytvářejí skutečný obraz a délka tubusu není fixní. Tyto mikroskopy se označují jako **infinity corrected** (Obr.16). Objekt (preparát) se umísťuje přesně do ohniskové vzdálenosti objektivové čočky, takže z objektivu vychází svazek rovnoběžných paprsků. Ten je soustředěn do primárního obrazu pomocí tubusové čočky umístěné uvnitř těla mikroskopu. Výhodou tohoto uspořádání je, že do cesty svazku rovnoběžných paprsků během průchodu tělem mikroskopu mohou být umístěny doplňkové optické složky, např. polarizační filtry nebo separátor světelného svazku pro mikrofotografii (vzpomeňte si, že neskutečný obraz vytvořený okulárovou čočkou nelze zachytit na film, takže pro zachycení obrazu je třeba odseparovat část svazku paprsků tvořících primární skutečný obraz). Celkové zvětšení u těchto mikroskopů se vypočítá jako zvětšení okuláru krát zvětšení objektivu.



Obr. 16 (<http://www.olympusmicro.com/primer/anatomy/components.html>)

Uvnitř rodiny složených optických mikroskopů rozlišujeme dva hlavní designy: stereo- neboli preparační (disekční) mikroskopy a složené mikroskopy s jedním světelným svazkem (běžně nazývané mikroskopy).

**Stereomikroskop** (binokulární lupa – "binolupa", preparační mikroskop) sestává ve skutečnosti ze dvou vedle sebe umístěných složených mikroskopů o relativně malém zvětšení. Vzorkem prochází dva samostatné světelné svazky, které po průchodu čočkami vytváří dva nezávislé obrazy na sítnici očí pozorovatele. Ten pak vnímá obraz stereo. Někdy je místo dvou samostatných objektivů použita jedna sdílená velká objektivová čočka, nicméně i pak jí procházejí dva samostatné světelné paprsky, do každého oka pozorovatele jeden. Stereomikroskopy mívají většinou mezi objektivem a okulárem vložen ještě optický hranol, který převrací (již převrácený) neskutečný obraz, takže pozorovatel vidí objekt ve skutečné orientaci (tj. správně vpravo/vlevo a nahore/dole orientovaný). To je užitečné například při preparacích tkání pod mikroskopem. Pro toto použití je také podstatná velká pracovní vzdálenost mezi objektivem a vzorkem a relativně velká hloubka ostroty (kdy jsou ostře vidět detaily s větším rozsahem vzdáleností od objektivu). Pokud jsou na stereomikroskop napojeny fotoaparát nebo kamera, využívají většinou pouze jeden světelný paprsek, takže jejich použití zabraňuje současnému průchodu světla daným okulárem a pozorování objektu stereo.

U **složených mikroskopů s jedním světelným svazkem** (dále jen mikroskopů) prochází vzorkem a objektivem jen jeden světelný svazek, který bývá u mikroskopů s binokulárním uspořádáním (tj. se dvěma okuláry) rozdělen do dvou identických složek. Obě oči tak vnímají identický obraz, ale ne stereo.

## Dokumentace mikroskopovaných objektů

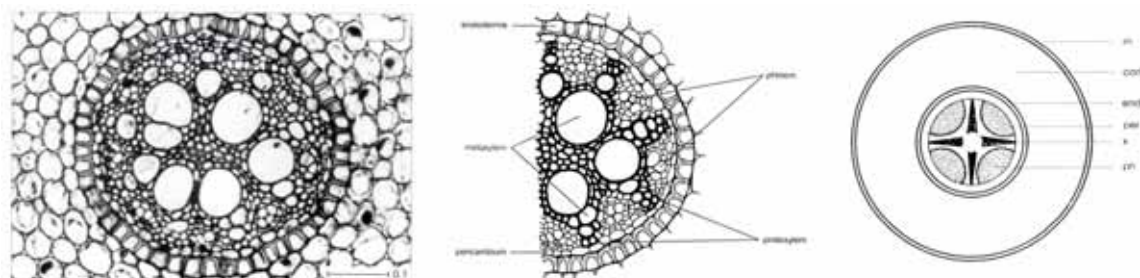
Při studiu biologických objektů za pomoci mikroskopu dojdeme dříve nebo později k potřebě svá pozorování zaznamenat. První možností je **slovní popis**, který se používá v anatomických a morfologických studiích, při tvorbě určovacích klíčů atd. Samotný popis je často doplněn i zjištěnými rozměry buněk, organel, tkání či orgánů (viz kapitola Měření a počítání mikroskopovaných objektů). Slovní popis ale často nemůže postihnout všechny pozorované detaily, navíc výklad některých slov (především přídavných jmen a příslovcí) je velmi subjektivní. Proto je i slovní popis často doplněn schématem, kresbou nebo fotografií (viz Obr. 17).

**Schéma** je zjednodušený náčrt pozorovaného objektu, přičemž nám jde o přibližné dodržení relativních poměrů velikostí zachycených částí, ne o vystižení tvaru a polohy určité konkrétní buňky.

**Kresba** je co nejuvěrnější zachycení obrazu sledovaného objektu pomocí tužky (nebo tuše), přičemž zachováváme nejen relativní poměry velikostí, ale i vzájemnou polohu jednotlivých buněk (kreslíme konkrétní buňku nebo orgán, zasazené do jejich okolí). Oproti fotografii má výhodu možného proostřování během kreslení a nezachycení rušivých optických vjemů z jiných rovin ostroty. Přínosný pro vlastního dokumentátora je i fakt, že si pro věrné zachycení musí studovaný objekt opravdu důkladně prohlédnout, přičemž si často všimne podstatných detailů. Nevýhodou je subjektivita, potřeba určité kreslířské zručnosti a časová náročnost.

Pro snadnější zachycení velikostních poměrů lze při kreslení použít okulár s čtvercovou sítí. Některé mikroskopy mohou být vybaveny tzv. kreslicím zařízením, které buď promítá obraz viděný v mikroskopu na pracovní desku vedle mikroskopu, kde může být obraz obtažen, nebo naopak umožňuje vidět kresbu současně s obrazem v okuláru.

**Fotografie** je z uvedených metod neobjektivnějším a nejuvěrnějším zachycením obrazu v mikroskopu, klade ale větší nároky na seřízení a čistotu optiky a kvalitu osvětlení. Nevýhodou je zachycení obrazu pouze v jedné rovině ostroty a někdy menší ilustrativnost oproti kresbě (nevyzvedává ani nepotlačuje některé detaily).



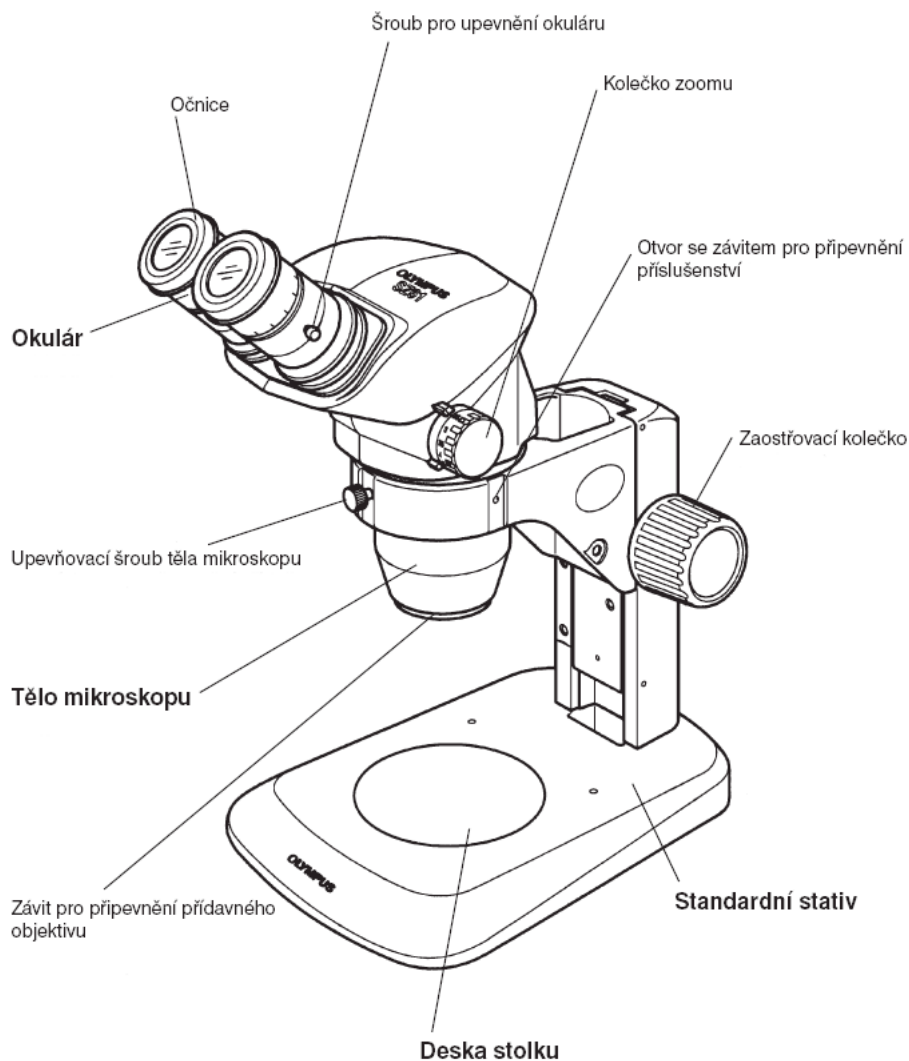
Obr. 17 (Pazourek & Votrubová)

Kromě klasické fotografie se v poslední době stále více uplatňuje dokumentace pomocí **videokamery**, kdy je obraz převeden do podoby patternu elektrických nábojů, které jsou buď následně čteny analogovým systémem, nebo jsou převedeny do digitální podoby. To umožňuje další počítačové zpracování, ať už jde o analýzu obrazu (zjištění přítomnosti, zastoupení nebo velikosti různě zbarvených struktur), prostorovou rekonstrukci ze série následných obrazů nebo úpravu obrazu pomocí grafických programů. Možnosti grafické úpravy s sebou nesou ale i riziko zkreslení informace, čehož by si měl být badatel vždy vědom (upravené obrázky přestávají být objektivním a věrným zachycením mikroskopického obrazu).

V průběhu kurzu BLT budete zakreslovat všechny mikroskopované objekty. Při kreslení dodržujte následující doporučení:

1. kreslete vždy **tužkou na nelinkovaný papír** velikosti **A4** (má to i praktický význam – kdybyste svůj výtvar potřebovali někdy nasnímat do počítače, zabere vám vymazávání linek či čtverečků a prosvítajícího textu spoustu času a často povede k zhoršení kvality obrázku)
2. obrázek kreslete **velký přes 1/2 až 2/3 stránky** (je přehlednější a opět, kdybyste ho potřebovali převést do počítače, nerovnou čáru nakreslenou roztřesenou rukou lze „vyhladit“ zmenšením obrázku, přehledně nakreslený detail vypadá dobře i po zmenšení)
3. začněte **rozvržením proporcí obrázku** (buňky, části tkáně) v podobě „lešení“ ze slabých čar
4. vlastní obrázek kreslete **plynulou čarou**. Názory na stínování se různí, omezte ho na nezbytné minimum a použijte ho tam, kde pomůže k orientaci v obrázku (pozor, stínování špiní)
5. vždy byste měli **vědět, co která čára znamená**, nekreslit bezmyšlenkovitě. Obrázek by měl mít po stranách popisky
6. každý obrázek by měl mít v **záhlaví** informaci, o jaký objekt jde (české a latinské druhové jméno), o jaký typ preparátu (příčný či podélný řez, roztlak ..., barveno čím), o jaký orgán jde, při jakém zvětšení byl obrázek pořizován (případně mít v obrázku úsečku s měřítkem). U dokumentace svých vzorků nezapomeňte na číslo vzorku, datum sběru a název lokality.

## Popis stereomikroskopu



Obr.18 ([www.olympus.cz](http://www.olympus.cz))

Objektiv, jehož ohnisková vzdálenost není pevná, ale je možno ji v určitém rozmezí měnit, se nazývá **transfokátor (Zoom)**.

Celkové zvětšení stereomikroskopu se vypočítá jako zvětšení transfokátoru \* zvětšení okuláru \* zvětšení **předsádkové čočky** (neboli **přídavného objektivu**), je-li použit.

Praktika jsou vybavena stereomikroskopy od různých výrobců.

V laboratoři 202 jsou binolupy **SZ 51** od firmy Olympus (Obr. 19).



Obr. 19

V laboratoři 204 jsou stereomikroskopy **STM 822 ZOOM** (Obr. 20).



Obr. 20

U obou typů lze nastavit vzdálenost okulárových tubusů. Zdroj světla je napájen přímo ze sítě, osvětlení pro pozorování v dopadajícím světle je připevněno na stativ pod objímkou stereohlavice, osvětlení pro pozorování v procházejícím světle je zabudováno do základny stativu. Volba typu osvětlení se provádí vypínači na boční straně základny stativu (v lab. 204) nebo otočnými knoflíky v zadní části stativu (v lab. 202). U obou typů lze také měnit intenzitu osvětlení.

U obou typů stereomikroskopu se zaostřuje přibližováním a oddalováním stereoskopické hlavice k pevnému stativu se vzorkem pomocí posuvného zaostřovacího šroubu.

## Obecné zásady práce s mikroskopem

1. udělám si na stole místo na práci, vše zbytečné uklidím nebo odložím na odkládací stolek
2. z mikroskopu sundám igelitový kryt
3. zapnu zdroj světla, zkontroluji dostatečné a rovnoměrné osvětlení zorného pole
4. na jedné straně mikroskopu (jsem-li pravák, tak vpravo) udržuji suché místo, kde kreslím, na druhé připravuji preparáty
5. na stolek připravím vzorek
6. každý vzorek pozoruji nejdříve při malém zvětšení (zorientuji se v něm, vyhledám místo, které mě zajímá), postupuji dále k větším zvětšením.

Úloha č. 1: kandelábrovitě trichomy z listu divizny (*Verbascum* sp.)

Úloha č. 2: stavba pupenu a květního poupěte třešně ptačí (*Prunus avium* L.)