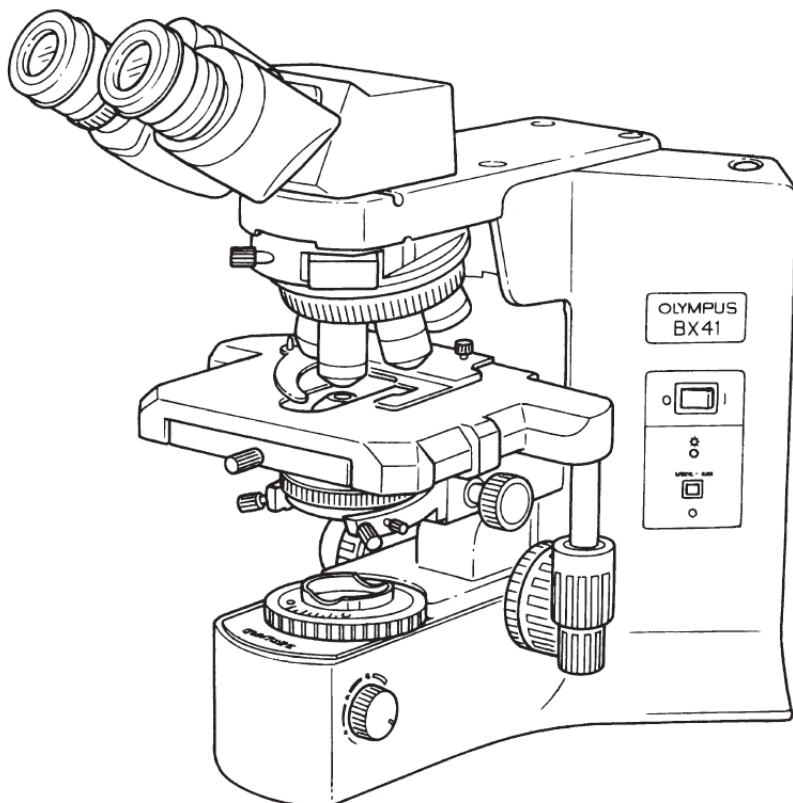


2. cvičení

Stavba světelného mikroskopu

Kromě již zmíněných objektivů a okulárů se složený mikroskop skládá z celé řady dalších komponent. Rozlišujeme je na mechanické a optické (Obr. 21).

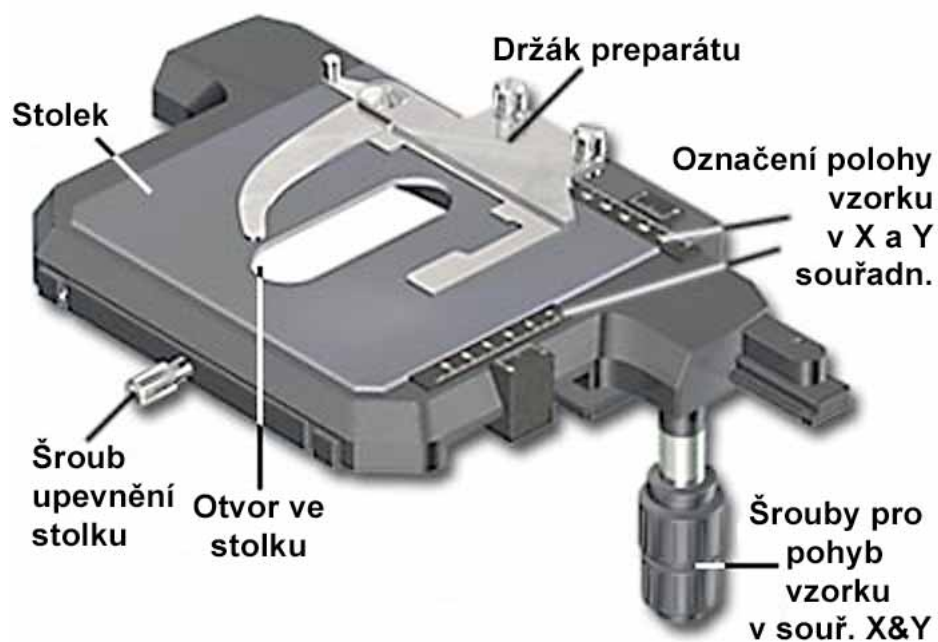
Mechanickými částmi jsou stativ, stůl a tubus.



Obr. 21 (návod k mikroskopu Olympus BX41)

Stativ tvoří pevnou dolní část mikroskopu. Někdy se ještě rozlišuje na nohu a pevné rameno (zejména u starších typů mikroskopů). Do stativu je zabudováno u moderních mikroskopů **osvětlení**, u starších typů se prosvětlení preparátu provádělo pomocí zrcátka, které odráželo denní světlo nebo světlo z nezávislé lampy. Na stativu se také nacházejí **zaostřovací šrouby** (makro- na hrubé ostření a mikro- na jemné doostření), které ovládají svislý pohyb rampy, na kterou je připojen jednak vlastní stůl, na nějž se umísťuje preparát, jednak nosič kondenzoru. Pro zabránění střetu objektivu s preparátem jsou mikroskopy často vybaveny **aretací**, která neumožní pohyb stolku nad zvolenou polohu.

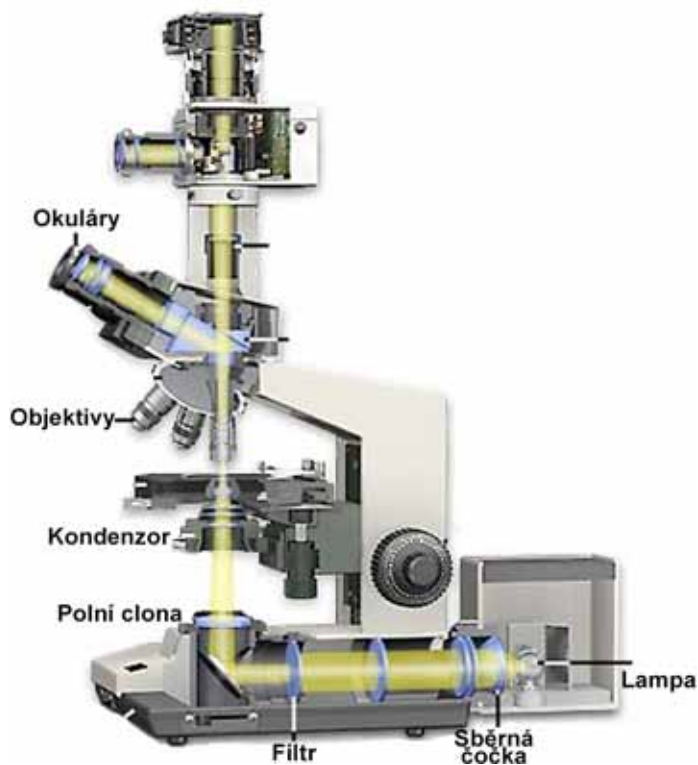
Stůl (Obr. 22) je u běžných mikroskopů tzv. křížový, což znamená, že umožňuje pohyb preparátu v pravouhlém systému souřadnic, takže je možné si zaznamenat polohu nalezeného objektu a později se k němu vrátit. Pohyb stolku je ovládán dvěma šrouby, jedním pro pohyb podle x-ové souřadnice, druhý pro y-ovou souřadnici. Podložní sklo s preparátem se vkládá do držáku neboli vodiče preparátu a je přidržováno ramínkem s pružinou.



Obr. 22 (<http://www.olympusmicro.com/primer/anatomy/stage.html>)

Do horní části stativu je připevněna **hlavice** mikroskopu, která má v dolní části **revolverový nosič objektivů**, který umožňuje plynulou výměnu jednotlivých objektivů při zachování optické osy a hrubého zaostření bez pohybu stolku (tj. zachovává nalezenou pozici na preparátu). Nad nosičem objektivů je uvnitř hlavice **tubus**. Je to trubice spojující objektiv s okulárem, která zabraňuje vstupu rušivého světla z okolí. U moderních mikroskopů jsou uvnitř tubusu hranoly rozdělující světelný paprsek přicházející z objektivu do dvou svazků, nasměrovaných do dvou okulárů (binokulární mikroskop), případně se odděluje část paprsků pro snímání obrazu kamerou (trinokulární uspořádání). Binokulární nástavec umožňuje nastavení vzdálenosti okulárů dle vzdálenosti očí pozorovatele a nezávislé zaostření obrazu v každém okuláru (viz dále okuláry).

Optické části (Obr. 23) se účastní na tvorbě a úpravě světelného svazku procházejícího mikroskopem. Jsou to především zdroj světla, sběrná čočka a plní clona, kondenzor, objektiv a okulár.

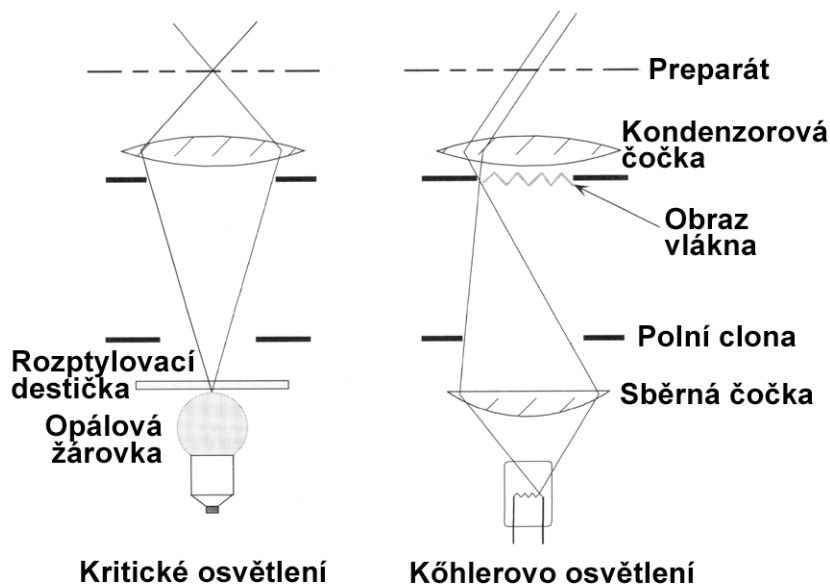


Obr. 23 (olympus.cz)

Jako **zdroj světla** se v dnešní době pro běžnou světelnou mikroskopii používají nejčastěji tungsten-halogenové lampy, které se umísťují do osvětlovací komůrky zabudované do spodní části stativu. Při výměně lampy je třeba dodržovat dvě zásady: 1. zahřátou lampu nechat vždy dostatečně vychladnout (20 min.), protože se při práci zahřívá na velmi vysokou teplotu, 2. nikdy nesahat na sklo lampy, protože otisky prstů se vpálí během používání do skla a zkracují životnost lampy; při výměně proto držíme novou lampu přes vnější obal.

Proud světla vycházející z lampy bývá usměrněn **sběrnou čočkou** do světelného kanálu ukončeného **polní clonou**, která vymezuje maximální velikost osvětleného pole. Mezi sběrnou čočkou a polní clonou se mohou umísťovat speciální filtry (pro vyvážení barev, pro specifickou absorpci určité barvy) zlepšující kontrast.

Proud světla prochází dále **kondenzorem**. Ten sestává ze systému čoček, které umožňují dále usměrnit proud světla a dokonale osvětlit celé zorné pole. „Dokonalost“ osvětlení spočívá v dostatečně silném a zároveň rovnoměrném osvětlení vzorku. Podle toho, kam se promítá obraz světelného zdroje, rozlišujeme dva typy osvětlení (Obr. 24).

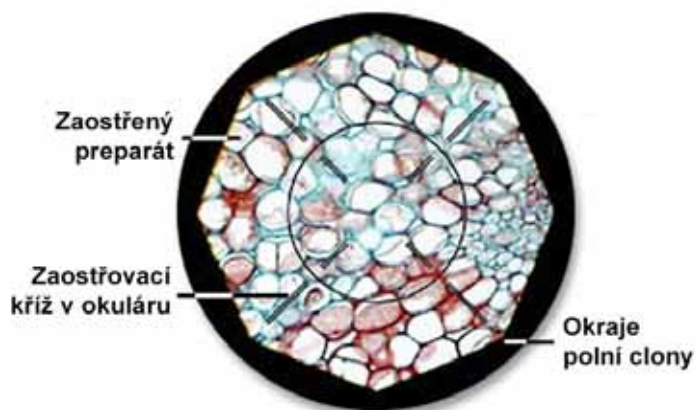


Obr. 24 (Rusin)

Pokud není proud světla ze zdroje usměřován sběrnou čočkou, ale až kondenzorovými čočkami tak, že se obraz světelného zdroje promítá do roviny preparátu, hovoříme o tzv. **kritickém osvětlení**. Aby promítnutý obraz vlákna žárovky nepůsobil při prohlížení preparátu rušivě, používají se jako zdroj světla žárovky s matným sklem nebo se mezi vlastní zdroj světla a kondenzor umístí rozptylovací destička z opálového skla. Nevýhodou tohoto typu osvětlení je, že nelze použít světelné zdroje o vysoké intenzitě světla, protože opálové sklo nerozptýlí světlo natolik, aby nebylo vlákno žárovky vidět.

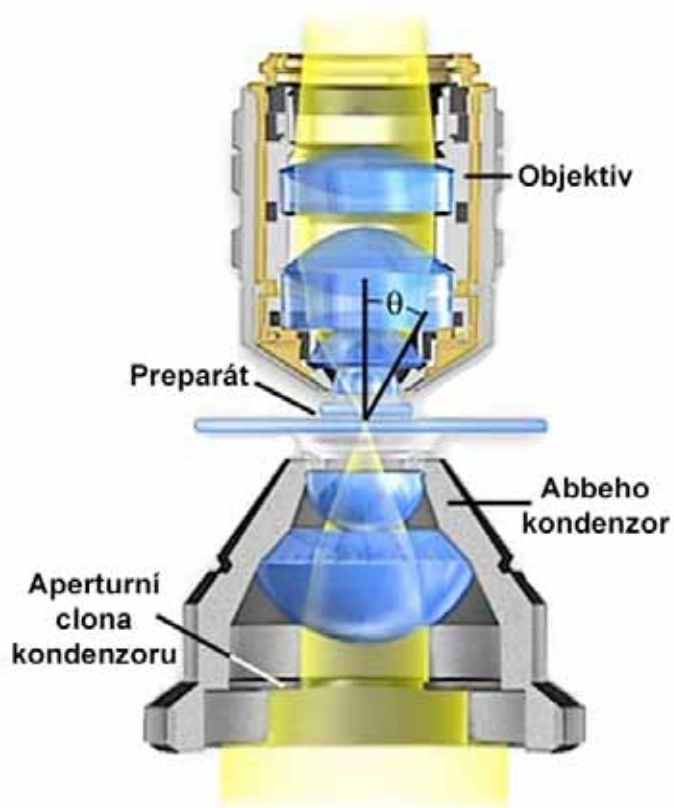
Většina současných mikroskopů je vybavena tzv. **Köhlerovým osvětlením**. Při umístění sběrné čočky mezi zdroj světla a kondenzor se obraz světelného zdroje (vlákna žárovky) promítá do přední ohniskové roviny kondenzorové čočky a do roviny preparátu se kondenzorovými čočkami promítá obraz sběrné čočky a polní clony. Díky tomu je preparát osvětlen rovnoměrně a homogenně.

Situace, kdy se do sebe promítá více zaostřených optických rovin, má pro mikroskopii zásadní význam. Roviny, které jsou zároveň zaostřeny, se nazývají **sdrúžené optické roviny mikroskopu** (optical microscope conjugate planes). Sada sdrúžených optických rovin zaostřených zároveň s preparátem dále obsahuje rovinu polní clony, rovinu pevné clony okuláru (tam se tvoří „primární“ obraz a mohou se tam vkládat okulárová měřítka a rastry) a optickou rovinu sítnice oka (Obr. 25). Jiná sada zahrnuje rovinu optického vlákna žárovky, rovinu předmětového ohniska kondenzorové čočky (tj. rovinu aperturní clony kondenzoru), obrazovou rovinu objektivu a rovinu tzv. Ramsdenova disku, tj. místa, kam umístíme čočku oka při mikroskopování. Pokud tedy chceme vidět aperturní clonu kondenzoru (např. při úpravě numerické apertury kondenzoru), musíme vyjmout okulár z tubusu a podívat se dovnitř do tubusu.



Obr. 25 (<http://www.olympusmicro.com/primer/anatomy/condensers.html>)

Podstatnou součástí kondenzoru je **kondenzorová** (nebo též irisová, aperturní) **clona** (Obr. 26). Je umístěna před vlastní soustavu kondenzorových čoček a vymezuje šířku proudu světla, který prochází kondenzorovými čočkami.



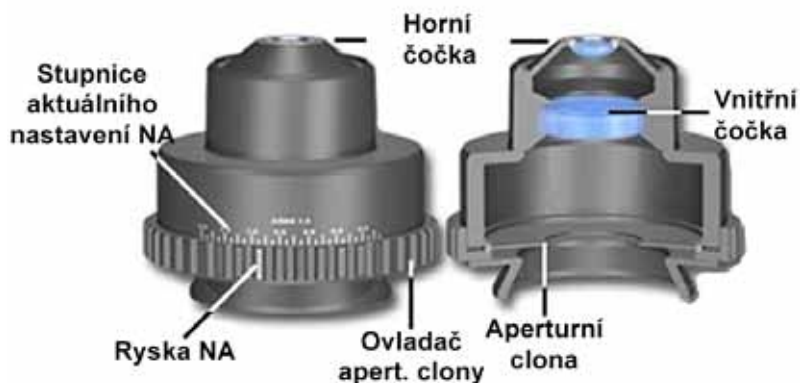
Obr. 26 (<http://www.olympusmicro.com/primer/anatomy/condensers.html>)

Čím širší je proud světla vstupující do kondenzoru, tím větší bude úhel α (2θ , viz Obr. 26) světelného kužele vycházejícího z kondenzoru (a po průchodu preparátem směřujícího k objektivu). Do optické soustavy objektivu může světlo vstupovat pod určitým maximálním úhlem α_{\max} . Čím větší je tento úhel, tím větší rozlišovací schopnost daný objektiv má. Velikost tohoto úhlu závisí na velikosti otvoru (anglicky *aperture*), jímž do optické soustavy (v tomto případě objektivové) může světlo vstupovat a na optické hustotě prostředí, jímž paprsky procházejí (prostředí je opticky charakterizováno svým indexem lomu n). Na objektivě (ale i na kondenzorech) se neuvádí přímo tento maximální úhel, ale odvozená veličina - **numerická apertura NA**

$$NA = n \cdot \sin (\alpha_{\max} / 2)$$

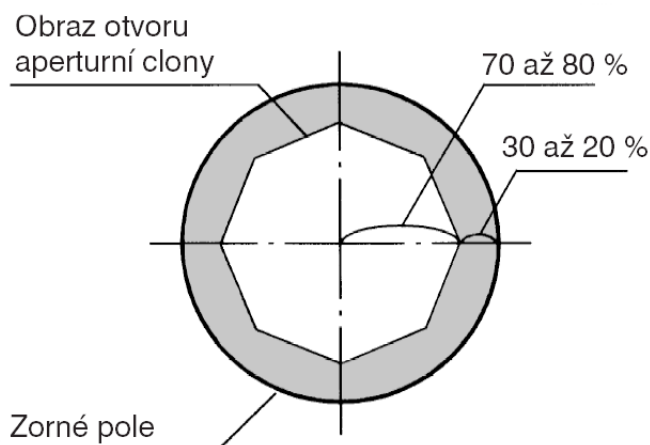
Pro optimální využití mikroskopu se doporučuje, aby kondenzor měl numerickou aperturu shodnou (nebo jen o málo menší) než je maximální numerická apertura použitých objektivů. Při použití objektivu s menší aperturou, než má použitý kondenzor, se vzájemné shody dosáhne pomocí kondenzorové clony. Příliš velké otevření clony vede k rozptylu světla a ztrátě kontrastu, jejím přílišným uzavřením snižuje se rozlišení.

Doporučuje se nastavit hodnotu NA kondenzoru pomocí clony na 70 - 80 % NA použitého objektivu. Tímto nastavením omezíme rozptyl světla a dosáhneme lepšího rozlišení, kontrastu i hloubky ostrosti. Některé kondenzory mají na sobě vyznačenu stupnici, na které je možné odečíst aktuální NA kondenzoru při různě otevřené aperturní cloně (Obr. 27) .

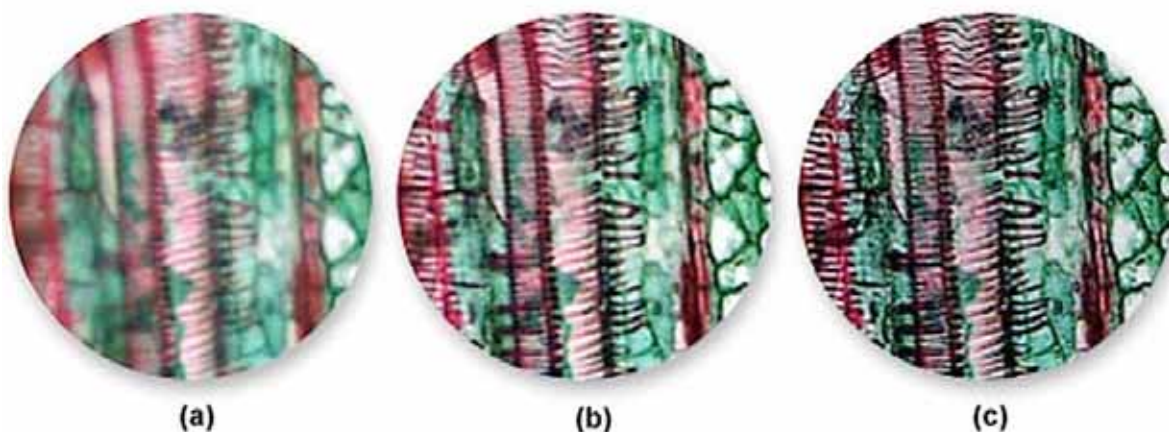


Obr. 27 (<http://www.olympusmicro.com/primer/anatomy/condensers.html>)

Pokud takovou stupnici mikroskop, se kterým pracujete, nemá, je možné zkontrolovat otevření aperturní clony při použití určitého objektivu tak, že vyjmete jeden okulár a při pohledu do okulárového tubusu nastavíte správné otevření aperturní clony (Obr. 28).



Obr. 28 (Olympus BX50 manuál)



Obr. 29 (<http://www.olympusmicro.com/primer/anatomy/kohler.html>)

Na obr. 29 vidíme řez kmenem lípy při různě otevřené aperturní cloně kondenzoru. Na prvním obrázku (a) je aperturní clona kondenzoru otevřena tak, že NA kondenzoru a okuláru je přibližně stejná. Ačkoli je většina detailů vidět, obraz je znehodnocen přílišným rozptylem světla a jasnem. Na druhém obrázku (b) je numerická apertura kondenzoru nastavena zhruba na 70% NA objektivu. Nadbytečný jas je odstraněn, obraz je ostrý, s dobře viditelnými detaily. Na posledním obrázku (c) je aperturní clona kondenzoru maximálně přivřená, takže

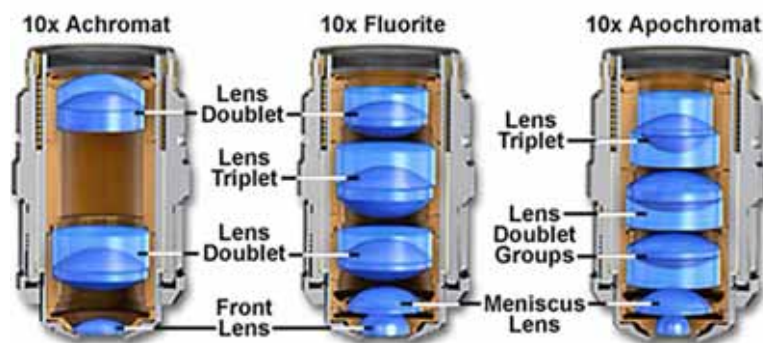
NA kondenzoru nabývá jen asi čtvrtinové hodnoty NA objektivu. Jemné detaily se stávají nezřetelné vlivem lomu a ohybu světla, nedostatek světla způsobuje také barevný posun.

Na jednom mikroskopu se běžně používá řada objektivů s velkým rozsahem zvětšení (od 2x do 100x), což předpokládá možnost nastavení šířky kužele světla vystupujícího z kondenzoru od 10 mm do 0,2 až 0,4 mm. V praxi se proto někdy setkáte s tím, že při použití objektivů s menším zvětšením není ani při úplně otevřené polní cloně osvětleno celé zorné pole. Některé mikroskopy mají tento problém vyřešen tak, že pro objektivy malých zvětšení je kondenzor vybaven speciální čočkou, která se při přechodu na silnější objektivy odklopí.

Podle toho, jaké vady čoček jsou u daného kondenzoru korigovány, rozlišujeme čtyři typy kondenzorů. Nejjednodušší, nekorigovaný je tzv. **Abbého kondenzor**, který se běžně používá pro rutinní práci v kombinaci s objektivy středního zvětšení a numerické apertury. Vyšší úroveň korekcí mají **aplanatické** (korekce sférické vady) a **achromatické kondenzory** (korekce chromatické vady), nejvyšší **aplanatico-achromatické kondenzory**.

Po průchodu kondenzorem a vzorkem je světlo zachyceno soustavou objektivových čoček (zjednodušeně **objektivem**). Protože objektiv odpovídá za tvorbu primárního obrazu, čímž vymezuje možnosti kvality obrazu, který může mikroskop poskytnout, můžeme jej považovat za nejdůležitější složku mikroskopu. Vedle vlastního zvětšení, které objektiv poskytuje, a prokreslení detailů, které souvisí s jeho numerickou aperturou, závisí kvalita objektivu také na míře, do jaké jsou výrobcem korigovány vady jeho čoček. Vady čoček jsou způsobeny jednak vlastním materiálem čoček (vada sférická, astigmatická, koma, vyklenutí zorného pole a distorze), jednak nehomogenním charakterem bílého světla (chromatická vada).

Nejlevnější a nejběžnější **achromatické objektivy** (Obr. 30) mají korigovanou chromatickou vadu pro dvě vlnové délky (červené a modré světlo) a sférickou vadu pro zelené světlo. Nejlepších výsledků dosahují při použití zeleného filtru a černobílých filmů pro mikrofotografii. Vyšší úroveň korekcí vad (ale i nárůst ceny) představují **fluority** neboli **semiapochromáty**, ve kterých jsou některé čočky ze skla korunového nahrazeny čočkami z fluoritu nebo podobných materiálů, které dále korigují chromatickou vadu. Nejdražší a nejlepší jsou **apochromatické objektivy**, které mají chromatickou vadu korigovanou pro tři vlnové délky (světlo červené, zelené a modré) a sférickou vadu pro světlo modré a zelené. Je-li navíc korigováno vyklenutí zorného pole, mají dané objektivy předponu **plan-** (např. planachromatické).



Obr. 30 (<http://www.olympusmicro.com/primer/anatomy/objectives.html>)

Vezmeme-li si nějaký konkrétní objektiv, jsou na něm následující informace (Obr. 31):

60x Plan Achromat Objective



Obr. 31 (<http://www.olympusmicro.com/primer/anatomy/specifications.html>)

Výrobce: Nikon, Nippon, Olympus, Zeiss, Leica

Pro jaké vady je objektiv korigován: **Achro, Achromat** – achromatické objektivy, **Fl, Fluar, Fluor, Neofluar, Fluotar** – fluoritové objektivy, **Apo** – apochromatické objektivy, **Plan, Pl, EF, Achroplan, Plan Apo, Plano** – korekce vyklenutí zorného pole, atd.

Zvětšení: v rozsahu od 0,5x do 250x

Numerická apertura a imerzní médium, v němž je dané NA dosaženo (**Oil, Oel** – olejová, **Water, WI, Wasser** – vodní, **HI** – homogenní, **Gly** – glycerinová)

Speciální určení: **P, Po, POL** – pro polarizované světlo, **SF** – čočky jsou z homogenního, bezvláknového materiálu, **PH** – pro fázový kontrast, **DIC** – pro diferenciální interferenční kontrast, apod.

Délka tubusu (mechanická délka tubusu, faktor tubusu): je buď pevná (liši se podle výrobce mikroskopů 160 – 210 mm), nebo je označena jako ∞ pro „infinity corrected“ mikroskopy

Tloušťka krycího skla: mezinárodní standard výrobců krycích skel je v současnosti 0,17 mm, ale i v rámci jednoho balení se tloušťka může nepatrně lišit. Proto mají některé vyspělejší objektivy korekční kroužek, kterým se dá přizpůsobit nastavení objektivových čoček tloušťce krycích skel (přítomnost korekčního kroužku je označena **Corr, w/Corr, CR**)

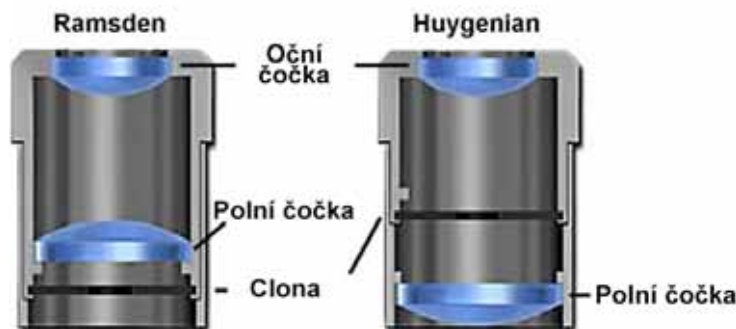
Pracovní vzdálenost: je vzdálenost mezi čelní čočkou objektivu a povrchem krycího skla. Na starších objektivách se neuvádí. Souvisí nepřímou úměrně se zvětšením objektivu. Může být označena zkratkami: **L, LL, LD, LWD** pro velkou prac. vzdálenost, **ELWD** pro extra velkou PV, **SLWD** pro super velkou PV a **ULWD** pro ultra velkou PV. Pro představu, jaká je souvislost mezi numerickou aperturou, pracovní vzdáleností, typem objektivu z hlediska korekce vad čoček a zvětšením objektivu, následuje tabulka.

korekce vad	zvětšení	NA	pracovní vzdálenost
ACH	10x	0.25	6.10
ACH	20x	0.4	3.00
ACH	40x	0.65	0.45
ACH	100x (olej)	1.25	0.13
PL APO	10x	0.4	3.10
PL APO	20x	0.7	0.65
PL APO	40x	0.85	0.20
PL APO	100x (olej)	1.4	0.10

Barevné označení: mezinárodně jsou standardizována jednak barevná označení zvětšení, jednak imerzního media. Pro zvětšení objektivu platí: bez barevného označení – 0,5x, černé – 1-1,5x, hnědé nebo oranžové – 2-2,5x, červené – 4-5x, žluté – 10x, zelené – 16-20x, tyrkysová – 25-35x, světle modrá – 40-50x, kobaltová modř – 60-63x, bílá – 100-250x. Pro imerzní media platí: černá – olej, oranžová – glycerol, bílá – voda, červená – speciální.

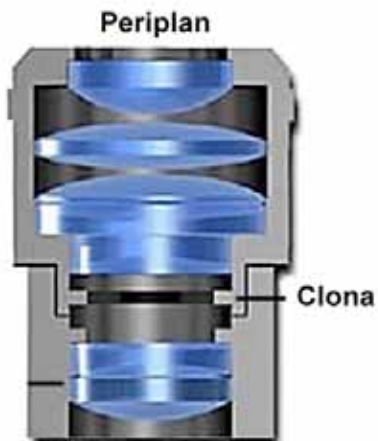
Dalším optickým systémem v každém mikroskopu jsou **okuláry**. Pro optimalizaci výsledků je potřeba vybírat okuláry odpovídající použitým objektivům (jejich typu a korekci vad).

Podle uspořádání čoček a pevné clony se okuláry dělí na negativní (Huygensovy) a pozitivní (Ramsdenovy) (Obr. 32).



Obr. 32 (<http://www.olympusmicro.com/primer/anatomy/oculars.html>)

Jejich nejjednodušší typy bez korekce nebo s korekcí chromatické vady (tzv. Kellnerův design) se hodí pro použití s achromatickými objektivy do čtyřicetinasobného zvětšení. Pro použití s fluoritovými, apochromatickými a všemi plano-objektivy, stejně jako s achromatickými objektivy s větším zvětšením by se měly používat tzv. **kompensační okuláry** (pozitivní nebo negativní) označené **K**, **C** nebo **comp**. Pro překonání vad se k sobě čočky lepí ve vhodné vzájemné orientaci po dvou až třech, takže např. vyspělý typ Periplan (Obr. 33) obsahuje jeden triplet, jeden doublet a dvě samostatné čočky.



Obr. 33 (<http://www.olympusmicro.com/primer/anatomy/oculars.html>)

V současné době patří k běžnému vybavení okulárů (Obr. 34) možnost dioptrické korekce (korekčním kroužkem s vyznačením dioptrií na jednom nebo obou okulárech) a také prodloužení ohniskové vzdálenosti oční čočky (označeno **H** a vzdáleností ohniska v mm), což badateli umožňuje pracovat s brýlemi (značka brýle). Pro snazší umístění oka do správné vzdálenosti, proti rušivému vlivu okolního světla a pro ochranu oční čočky okuláru před ušpiněním (kožní maz, šminky) jsou okuláry vybaveny pryžovými očnicemi. Další vymožeností je postupné zavádění okulárů s mnohem širším zorným polem, než bylo běžné dříve. Ty s nadstandardně širokým zorným polem jsou označeny **WF** (wide field), **UWF** (ultra wide field) nebo **SWF** (super wide field).



Obr. 34 (<http://www.olympusmicro.com/primer/anatomy/oculars.html>)

Mezi okuláry pro speciální použití patří okuláry vybavené měřítky, rámečky a zaměřovacími kříži pro mikrofotografii, čtvercovou sítí pro počítání objektů nebo projekčními čočkami pro přenos a zvětšení primárního obrazu z tubusu do kamery při mikrofotografii (tento typ se umísťuje do vnitřní části tubusu a neslouží k přímému pozorování).

Popis používaných mikroskopů

Na cvičeních budete pracovat s mikroskopy CX31 (Obr. 35) firmy Olympus.



Obr. 35

Osvětlovací zdroj je zabudován do stativu, nad jehož povrch vyčnívá kruh s polní clonou. Výhodná je možnost regulace intenzity osvětlení otočným regulátorem na boku stativu. Mikroskopy v pracovně 202 jsou vybaveny pro pozorování ve světlém poli (otočný kruh na kondenzoru je nastaven do pozice 0), v tmném poli (kruh je otočen do pozice D) a ve fázovém kontrastu (kruh je otočen do pozice odpovídající číslem použitému objektivu), nelze na nich ale centrovat kondenzor a seřízení kondenzorové clony (pomocí regulačního kroužku umístěného na dolní straně kondenzoru) je možné kontrolovat pohledem do tubusu po vyjmutí okuláru. U mikroskopů v laboratoři 204 je jednoduchý kondenzor pro pozorování ve světlém poli, který má na sobě škálu NA usnadňující kontrolu otevření kondenzorové clony a šrouby umožňující vycentrování kondenzoru.

Na terénních cvičeních se můžete setkat s mikroskopem **DD 37 BN** (Obr. 36) vyrobeným českou firmou MEOPTA



Obr. 36

Připojení světelného zdroje do sítě je možné jen přes transformátor napětí. Intenzita osvětlení se u těchto mikroskopů nedá regulovat změnou příkonu, ale vřazením filtrů do nosiče filtrů pod kondenzorem.

Nosič osvětlení má na sobě dva centrovací šrouby, které umožňují vycentrování žárovky, posuvnou sběrnou čočku a polní clonu (Obr. 37)



Obr. 37

Tyto mikroskopy jsou vybaveny odklápěcí spodní čočkou kondenzoru pro práci se slabšími objektivy (4x a 10x).



Obr. 38

Popisky na objektivě tohoto mikroskopu znamenají (Obr. 38): **170/0,18** mechanickou délku tubusu, pro kterou je objektiv zkonstruován, a tloušťku krycích skel; **100:1** zvětšení; **1,3 ol.im** numerickou aperturu objektivu, které se dosáhne při použití olejové imerze. Dva černé pruhy značí, že jde o imerzní objektiv.

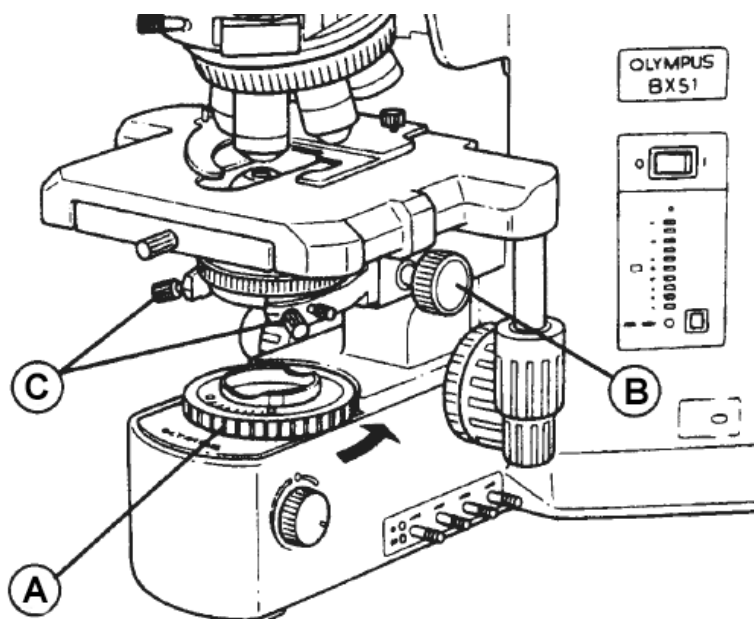
Zásady práce s mikroskopem (pokračování)

Na obecné zásady, které jsme zavedli minule a které jsou společné pro práci se všemi typy mikroskopů, navážeme pravidly práce s mikroskopem s malou pracovní vzdáleností. Mikroskop i pracovní stůl jsme podle předchozích pravidel připravili k práci, zapnuli jsme osvětlení a na stolek jsme připevnili preparát (**krycím sklem vzhůru!**)

1. na nosiči objektivů nastavím **objektiv s nejmenším zvětšením**
2. **při pohledu z boku** přiblížím stolek s preparátem co nejbliž k objektivu, pak **při pohledu do okulárů** oddaluji stolek pomocí zaostřovacích šroubů (makrošroubů), dokud nespátřím objekty v preparátu (tímto postupem zabráním proražení skla preparátu čelní čočkou objektivu, zničení preparátu a znečištění, případně poškrábání čočky objektivu). Doostřím mikrošroubem. Pokud nejsou dioptrickou korekcí vybaveny oba okuláry, zaostřím nejdřív obraz v okuláru bez dioptrické korekce, obraz v okuláru s dioptrickou korekcí doostřím pomocí kroužku dioptrické korekce.
3. zkontroluji **osvětlení** zorného pole
4. preparát prohlížím **nejdříve pod malým, později pod větším zvětšením**; osvětlení upravím vždy pro nově použitý objektiv (viz nastavení Köhlerova osvětlení). S imerzními objektivy pracuji vždy s použitím příslušného imerzního média (viz postup práce s imerzním objektivem, 3. cvičení)
5. Během práce s dočasnými preparáty kontroluji, zda **nevysychá roztok** pod krycím sklem
6. Pokud **prací** na delší dobu **přeruším** (jdu na svačinu nebo sleduji výklad k následující úloze), vždy **vypnu osvětlení** mikroskopu
7. **Výměnu preparátů** provádím **při** nastavení objektivu s **nejmenším zvětšením** (snižuji pravděpodobnost znečištění nebo poškrábání čočky objektivů)
8. **Po ukončení práce vypnu osvětlení** (vypínačem i ze zdroje), zkontroluji **čistotu stolku i objektivů, přes mikroskop dám kryt** proti zaprášení

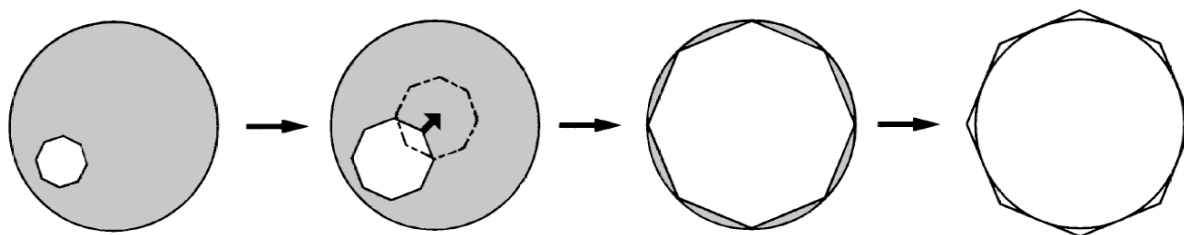
Nastavení **Köhlerova osvětlení** (pokud je to u mikroskopu, s nímž pracujete, možné).

1. zaostřím na preparát (objektiv zvětšující více než 10x), je-li mikroskop vybaven kondenzorem s odklápěcí čočkou, odklopím ji.
2. zcela zavřu polní clonu (Obr. 39, A); její okraje zaostřím pohybem kondenzoru (Obr. 39, B) nahoru a dolů (takže bude zároveň ostrý obraz preparátu a polní clony)



Obr. 39 (Návod k mikroskopu BX50)

3. při postupném otevírání polní clony její okraje musí ležet na všech stranách stejně daleko právě mimo zorné pole (pokud by nebyl kondenzor vycentrovaný, umístím obraz polní clony pomocí kondenzorových centrovacích šroubů – Obr. 39, C - do středu zorného pole, Obr. 40). Tímto mám nastavenou vzdálenost kondenzoru pro daný objektiv a otevření polní clony



Obr. 40 (Návod k mikroskopu BX50)

4. **kontrast** obrazu prohlíženého preparátu upravím **pomocí kondenzorové clony** (postup viz úprava NA kondenzoru pomocí aperturní clony v textu dnešní teoretické části). Nikdy nepoužívejte kondenzorovou clonu na úpravu intenzity osvětlení!

5. **intenzitu světla** upravím **příkonem osvětlení** nebo použitím **filtrů**.

Úloha č. 3: buňka pokožky dužnatého listu cibule (*Allium cepa* L.) a její plazmolýza