

Тема 1 Световые микроскопы, временные препараты

Материал. Микроскопы МБР-1, предметные и покровные стекла, лезвие, препаровальные иглы.

Общие замечания

Биологический микроскоп – это оптический прибор, при помощи которого можно получить увеличенное обратное изображение изучаемого объекта и рассмотреть мелкие детали его строения (рисунок 12).

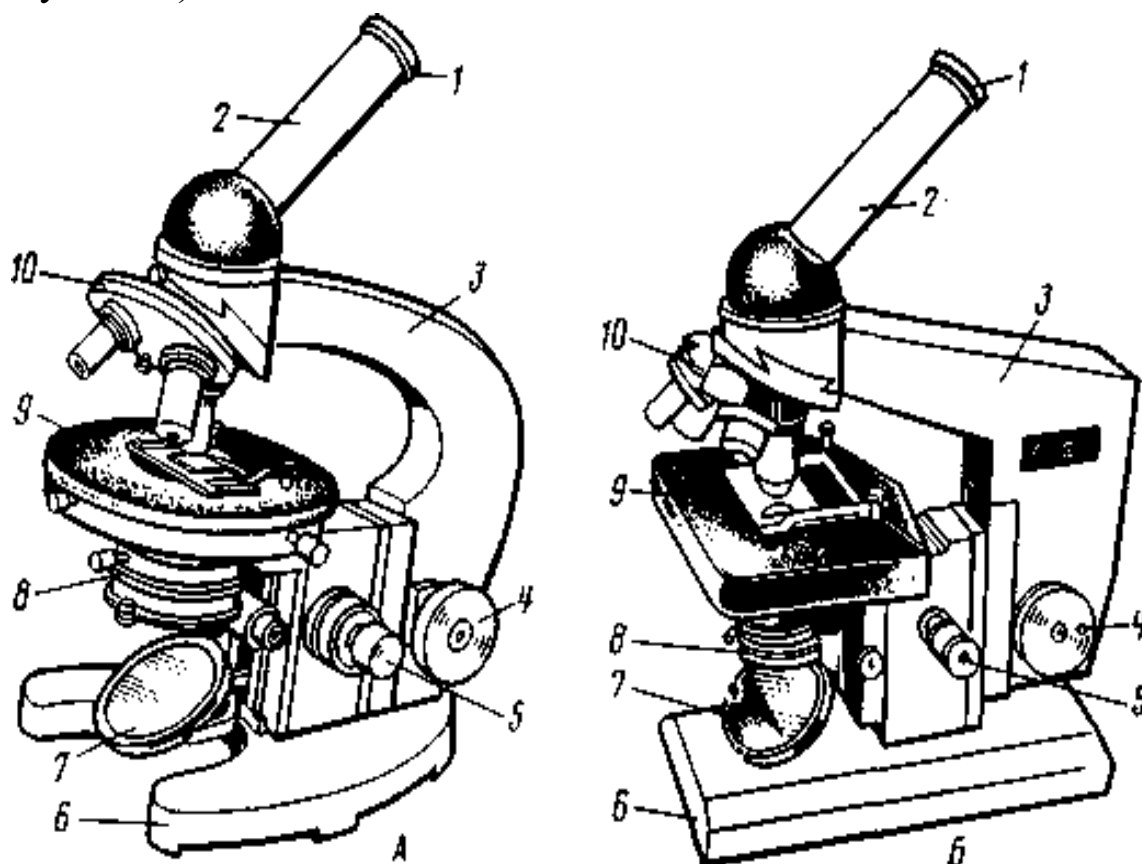


Рисунок 12 – Световые микроскопы:

А – МБР-1; Б – «Биолам»: 1 – окуляр; 2 – тубус; 3 – тубусодержатель; 4 – винт грубой наводки; 5 – микрометрический винт; 6 – подставка; 7 – зеркало; 8 – конденсор и ирисовая диафрагма; 9 – предметный столик; 10 – револьвер с объективами

В микроскопе выделяют две системы: *оптическую* и *механическую*. К *оптической* системе относят объективы, окуляры и осветительное устройство.

Объектив. С его помощью получают увеличенное действительное, но обратное изображение объекта. Объектив состоит из металлического цилиндра и вмонтированных в него линз. Микроскоп МБР-1 снабжен тремя объективами: $\times 8$, $\times 40$, $\times 90$.

Окуляр подобно лупе дает прямое, мнимое, увеличенное изображение наблюдаемого объекта, построенное объективом. Окуляр состоит из двух-трех линз, вмонтированных в металлический цилиндр. Между линзами расположена постоянная диафрагма, определяющая границы поля зрения. Нижняя линза фокусирует изображение объекта, построенное объективом, в плоскости диафрагмы, а верхняя служит непосредственно для наблюдения. Увеличение окуляров обозначено на них цифрами: $\times 7$, $\times 10$, $\times 15$.

Для определения общего увеличения микроскопа следует умножить увеличение объектива на увеличение окуляра (например, 90×10).

Осветительное устройство состоит из зеркала и конденсора с ирисовой диафрагмой, расположенных под предметным столиком. Оно предназначено для освещения объекта пучком света.

Зеркало служит для направления света через конденсор и отверстие предметного столика на объект. Оно имеет две поверхности: плоскую и вогнутую. Зеркало закреплено на штативе так, что оно может вращаться в двух взаимно перпендикулярных плоскостях.

Конденсор состоит из двух-трех линз, вставленных в металлический цилиндр. При подъеме или опускании его при помощи специального винта соответственно конденсируется или рассеивается свет, падающий от зеркала на объект.

Ирисовая диафрагма расположена между зеркалом и конденсором. Она служит для изменения диаметра светового потока, направляемого зеркалом через конденсор на объект в соответствии с диаметром фронтальной линзы объектива, и состоит из тонких металлических пластинок. При помощи рычажка их можно то соединять, полностью закрывая нижнюю линзу конденсора, то разводить, увеличивая поток света.

Кольцо с матовым стеклом, или светофильтром, уменьшает освещенность объекта. Оно расположено под диафрагмой и передвигается в горизонтальной плоскости.

Механическая система микроскопа состоит из подставки; коробки с микрометричным механизмом и микрометричным винтом, тубусодержателя, винта грубой наводки, кронштейна конденсора, винта перемещения конденсора, револьвера и предметного столика.

Подставка – подковообразное основание микроскопа.

Микрометричный винт служит для незначительного перемещения тубусодержателя, а следовательно, и объектива на расстояния, измеряемые микрометрами. Полный оборот микрометричного винта передвигает тубусодержатель на 100 мкм, а поворот на одно деление опускает или поднимает тубусодержатель на 2 мкм.

Тубус, или *труба*, – цилиндр, в который сверху вставляют окуляры. Он подвижно соединен с головкой тубусодержателя и фиксируется стопорным винтом в определенном положении. Ослабив стопорный винт, тубус можно снять.

Револьвер предназначен для быстрой смены объективов, ввинченных в его гнезда. Центрированное положение объектива обеспечивает защелка, расположенная внутри револьвера.

Тубусодержатель несет тубус и револьвер.

Винт грубой наводки используют для значительного перемещения тубусодержателя, а следовательно, и объектива с целью фокусировки объекта при малом увеличении.

Предметный столик предназначен для расположения на нем препарата. В середине столика есть круглое отверстие, в которое входит фронтальная линза конденсора. У МБР-1 предметный столик круглый. На нем лежит подвижной диск. Его можно вращать вокруг оси и передвигать в двух взаимно перпендикулярных направлениях при помощи двух винтов, расположенных справа и слева от столика. На столике есть две пружинящие клеммы-зажимы, закрепляющие препарат.

Биологический микроскоп «Биолам С» (студенческий) и «Биолам Р» (рабочий). Микроскопы этой модели отличаются от МБР-1 прямоугольной подставкой, тубусодержателем коленчатой формы, предметным столиком прямоугольной формы, конденсором, имеющим дополнительную откидную линзу для работы с объективом малого увеличения (рисунок 12, Б).

Задания

1. Ознакомиться с устройством биологического микроскопа (МБР-1 или «Биолам») и назначением его частей. Усвоить важнейшие правила работы с микроскопом.
2. Освоить методику изготовления временных препаратов.

Порядок работы

Правила обращения с биологическими микроскопами

Выполняют последовательно все операции по правилам, которые необходимо соблюдать при работе с микроскопом.

1. Работают с микроскопом всегда сидя.
2. Ставят микроскоп у края стола так, чтобы окуляр находился против левого глаза, и в течение работы его не передвигают. Тетрадь и все предметы, необходимые для работы, располагают справа от микроскопа.
3. Открывают полностью диафрагму, поднимают конденсор в крайнее верхнее положение, чтобы его фронтальная линза находилась на одном уровне с предметным столиком. Если столик неотцентрирован, его передвигают при помощи винтов так, чтобы линза конденсора попала в центр отверстия столика.
4. Ставят объектив $\times 8$ в рабочее положение – на расстояние 1 см от предметного столика. Работу с микроскопом всегда начинают с малого увеличения.
5. Глядя левым глазом в окуляр и пользуясь вогнутым зеркалом, направляют свет от окна (но не прямой солнечный) или электрической лампы в объектив, и максимально и равномерно освещают поле зрения. Правый глаз оставляют открытым.
6. Кладут препарат на предметный столик так, чтобы изучаемый объект находился под объективом, и, глядя сбоку, опускают объектив при помощи винта грубой наводки до тех пор, пока расстояние между фронтальной линзой объектива и препаратом не станет 4–5 мм.
7. Глядя левым глазом в окуляр и вращая винт грубой наводки на себя, плавно поднимают объектив до положения, при котором хорошо видно изображение объекта. Передвигая препарат

рукой, находят нужное место, располагают его в центре поля зрения и закрепляют препарат клеммами.

Нельзя смотреть в окуляр и опускать объектив, вращая винт грубой наводки от себя, так как при этом фронтальная линза может раздавить покровное стекло и на ней появятся царапины.

8. Для изучения какого-либо участка объекта при большом увеличении ставят этот участок в центр поля зрения, передвигая препарат рукой. После этого поворачивают револьвер так, чтобы объектив $\times 40$ занял рабочее положение (объектив не поднимать). Смотрят в окуляр – изображение объекта будет нечетким. При помощи микрометрического винта добиваются хорошего изображения объекта.

9. Передвигают препарат при большом увеличении, только перемещая столик.

10. По окончании работы с большим увеличением поворачивают револьвер, устанавливают малое увеличение и снимают препарат. Нельзя вынимать препарат из-под объектива $\times 40$, так как рабочее расстояние его равно 0,6 мм и во время перемещения стекла легко можно испортить фронтальную линзу.

Уход за микроскопом

Только при правильном уходе микроскоп будет хорошо работать много лет. Особенно тщательно следят за чистотой оптической части: объективов, окуляров, конденсора, зеркала. Пыль с них смахивают кисточкой, приложенной к микроскопу, а затем протирают чистой хлопчатобумажной тряпочкой, которую хранят в закрытом месте. При слабом загрязнении перед протиранием можно подышать на линзы. Если такой прием не помогает и загрязнение остается, надо смочить тряпочку водой. Если же и при этом налет на линзе не удаляется, тряпочку увлажняют чистым бензином или смесью спирта с эфиром.

Совершенно недопустимо протирать линзы пальцами, случайными клочками бумаги или тряпками.

Во время работы предохраняют линзы от механических повреждений и соприкосновения с жидкостями, особенно кислотами, реактивами и красителями, применяемыми в качестве сред для срезов.

Если механические части микроскопа двигаются с трудом, не следует применять силу. Необходимо выяснить причину неполадки и устранить ее.

По окончании работы протирают чистой тряпкой все части микроскопа, накрывают его полиэтиленовым мешком и ставят в шкаф. Переносят микроскоп двумя руками: одной держат за тубусодержатель, другой – за подставку.

Изготовление временных препаратов

При изготовлении *временных* препаратов изучаемый объект помещают на предметное стекло в каплю воды или глицерина, раствора реактива или красителя и накрывают покровным стеклом. Такой препарат хранят не более месяца.

Препараты, которые можно хранить более длительный срок, называют *постоянными*.

Отдельные органы растений, например, листья некоторых видов, можно рассматривать под биологическим микроскопом целиком, без предварительного изготовления срезов. Однако число объектов, которые можно изучать на тотальных препаратах, невелико. Чаще приходится делать срезы органов, подлежащих изучению. Срезы готовят из свежих или фиксированных частей растений. Обычно для фиксации употребляют растворы спирта или формалина.

Объект зажимают между большим и указательным пальцами левой руки (большой палец должен быть ниже уровня среза), скальпелем выравнивают его поверхность, а затем делают тонкий срез бритвой, ведя ее к себе наискось одним плавным быстрым движением (не пилить!). При этом объект надо держать строго вертикально, а бритву – строго горизонтально. Обе руки должны быть совершенно свободны, не следует ими опираться на стол или прижимать к груди. Срезы снимают с бритвы мягкой кисточкой, смоченной водой, и помещают в воду, чтобы они не подсохли.

Во время работы с бритвой соблюдают следующие правила:
бритву применяют только для изготовления срезов;
не оставляют на столе открытой;
срезы с нее снимают, не касаясь твердым предметом лезвия;
после работы бритву тщательно протирают.

Временные препараты готовят, соблюдая следующую последовательность операций:

1. Моют и тщательно вытирают предметное и покровное стекла. Чтобы не сломать очень хрупкое покровное стекло, его ополаскивают в воде, помещают в складку полотенца между большим и указательным пальцами правой руки и осторожно вытирают круговыми движениями пальцев;

2. Наносят на предметное стекло каплю жидкости (вода, глицерин, раствор реактива или красителя);

3. Делают срез изучаемого органа при помощи бритвы;

4. Выбрав самый тонкий срез, кладут его на предметное стекло в каплю жидкости;

5. Закрывают срез покровным стеклом так, чтобы под него не попал воздух. Для этого покровное стекло берут двумя пальцами за грани, подводят нижнюю грань к краю капли жидкости и плавно опускают;

6. Если жидкости много и она вытекает из-под покровного стекла, избыток ее удаляют кусочком фильтровальной бумаги. Если под покровным стеклом остались места, заполненные воздухом, добавляют жидкость, поместив каплю ее рядом с краем покровного стекла.

Тема 2 Форма клеток, хлоропласты

Материал. Микроскопы МБР-1, предметные и покровные стекла, лезвие, препаровальные иглы; листья мха мний.

Задания

1. Изготовить препарат листа мха мний.

2. Рассмотреть общее строение листа при малом увеличении. Зарисовать его контуры и среднюю жилку.

3. Рассмотреть край листа при большом увеличении. Найти паренхимные и прозенхимные клетки.

4. Исследовать содержимое клеток, найти хлоропласты.

5. Зарисовать пять-шесть прозенхимных и паренхимных клеток с хлоропластами, сделать обозначения.

Порядок работы

Чтобы изготовить препарат, пинцетом отрывают лист мха мний, ополаскивают его, затем помещают в каплю воды на предметное стекло и накрывают покровным стеклом.

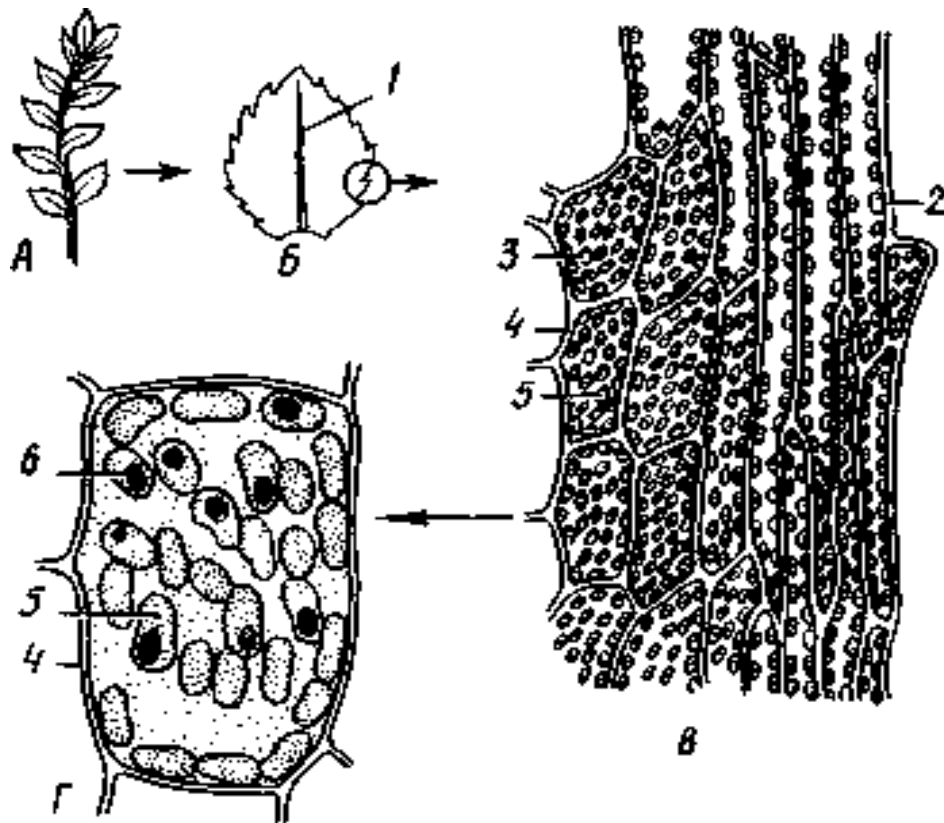


Рисунок 13 – Лист мха мний:

А, Б – лист при малом увеличении; В – край листа при большом увеличении; Г – клетка листа в растворе йода в йодиде калия: 1 – жилка; 2 – прозенхимная клетка; 3 – паренхимная клетка; 4 – стенка клетки; 5 – хлоропласт; 6 – первичный крахмал

При малом увеличении весь лист в поле зрения микроскопа обычно не виден, поэтому, передвигая препарат рукой, рассматривают его по частям.

Пластинка листа в основном состоит из одного слоя *паренхимных* клеток. Несколько рядов клеток по краям листа и клетки средней жилки имеют удлиненную форму. Это *прозенхимные* клетки.

По краям листа заметны одноклеточные зубчики (рисунок 13, А, Б). Все клетки заполнены хлоропластами. Зарисовывают при малом увеличении общие контуры листа и обозначают среднюю жилку.

При большом увеличении рассматривают более детально группу прозенхимных и паренхимных клеток на краю листа возле одного из зубчиков (рисунок 13, В). Обращают внимание на овальную форму хлоропластов. Зарисовывают при большом увеличении пять-шесть клеток края листа и делают обозначения: паренхимная клетка, прозенхимная клетка, стенка клетки, хлоропласты.

Тема 3 Строение клетки эпидермы сочной чешуи луковицы лука

Материал. Раствор йода в йодиде калия; луковица лука, микроскопы, препаровальные иглы.

Задания

1. Изготовить препарат эпидермы сочной чешуи луковицы лука.
2. Найти и рассмотреть при малом увеличении участок эпидермы, состоящий из одного слоя клеток с хорошо заметными ядрами.
3. Изучить строение клетки при большом увеличении сначала в капле воды, а затем в растворе йода в йодиде калия.
4. Зарисовать одну-две клетки и обозначить их основные части.

Порядок работы

Чтобы изготовить препарат, пинцетом или препаровальной иглой снимают эпидерму с выпуклой поверхности чешуи, помещают ее в каплю воды на предметное стекло наружной стороной кверху и накрывают покровным стеклом. Эпидерма с вогнутой стороны чешуи состоит из очень крупных клеток, которые обычно не помещаются в поле зрения при большом увеличении.

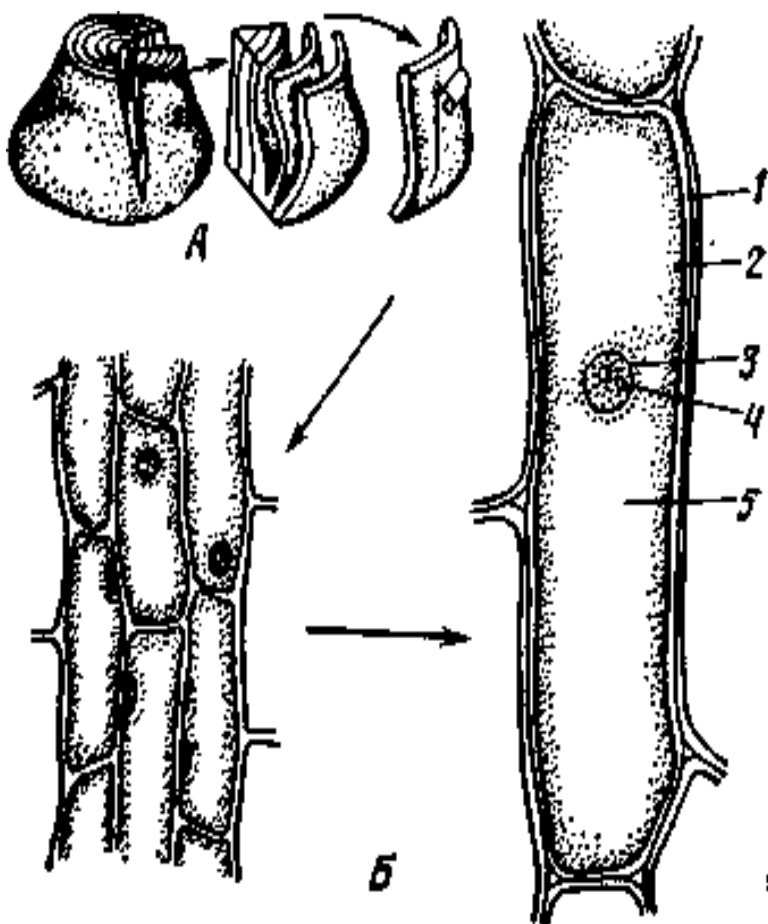


Рисунок 14 – Эпидерма сочной чешуи луковицы лука:
 А – снятие эпидермы;
 Б – клетки эпидерма сочной чешуи (справа – при большом увеличении, слева – при малом): 1 – стенка клетки; 2 – цитоплазма; 3 – ядро; 4 – ядрышко; 5 – вакуоль

Передвигая препарат, при малом увеличении находят участок из одного слоя клеток с ясно заметными ядрами и цитоплазмой (рисунок 14, А). Избранный участок объекта помещают в центр поля зрения и изучают при большом увеличении. На препарате, приготовленном в капле воды, хорошо видны светлые стенки клеток, в которых иногда заметны неутолщенные места – поры. Внутри каждой клетки в бесцветной зернистой цитоплазме можно наблюдать ядро с одним-двумя ядрышками. В более молодых клетках ядро находится в центральной части и окружено цитоплазмой, расходящейся тяжами к стенкам. Между тяжами цитоплазмы расположены вакуоли,

заполненные клеточным соком. В более старых клетках ядро лежит в постенном слое цитоплазмы, а всю центральную часть занимает большая вакуоль (рисунок 14, Б).

Граница между цитоплазмой и вакуолями будет видна значительно лучше, если на клетки действовали раствором йода в йодиде калия, который является также реактивом на белок. Реакцию можно провести, не снимая препарат со столика микроскопа. Для этого сухой стеклянной палочкой берут небольшую каплю реактива и наносят ее на предметное стекло около правого края покровного стекла, а с левой стороны кладут фильтровальную бумагу. Бу-

мага впитывает воду из-под покровного стекла, а на ее место проникает реактив. В результате реакции белки цитоплазмы окрашиваются в желтый цвет, а белки ядра – в темно-желтый. Вакуоли представляют собой более светлые пятна. Стенки клеток остаются бесцветными.

Изучив строение клеток, зарисовывают одну-две из них и делают обозначения: стенка клетки, цитоплазма, вакуоли, ядро, ядрышко.

Тема 4 Движение цитоплазмы в клетках волосков эпидермы стебля или листа тыквы

Материал. Листья элодеи, побеги тыквы, микроскопы, препаровальные иглы, предметные и покровные стекла.

Задания

1. Изготовить препараты листа элодеи и волосков, снятых со стебля или листа тыквы, в капле воды.
2. При большом увеличении обнаружить вращательное движение цитоплазмы в клетках средней жилки листа элодеи и струйчатое – в клетках волоска эпидермы стебля или листа тыквы.
3. Зарисовать по одной клетке и указать стрелками направление движения цитоплазмы.

Порядок работы

Рассматривая препарат листа элодеи при малом увеличении, отмечают, что пластинка листа состоит из двух слоев клеток, многослойна лишь средняя жилка.

При большом увеличении в средней жилке у основания листа находят клетки с движущейся вдоль их стенки цитоплазмой. В центре клетки находится вакуоль. Такое движение называют *вращательным* (круговым). Оно хорошо заметно вследствие того, что цитоплазма увлекает за собой хлоропласты (рисунок 15). Следовательно, движение самих хлоропластов пассивно.

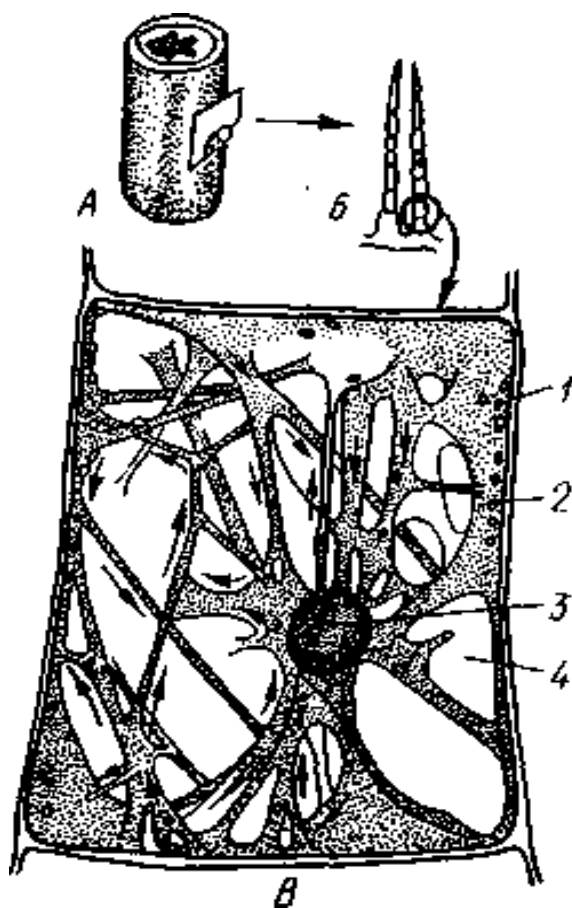


Рисунок 15 – Движение цитоплазмы: А – стебель тыквы; Б – волоски; В – клетка волоска (стрелками показано направление струйчатого движения цитоплазмы): 1 – стенка клетки; 2 – цитоплазма; 3 – ядро; 4 – вакуоль

Зарисовывают одну клетку; обозначают: хлоропласты, стенку клетки, вакуоль, цитоплазму; стрелками показывают направление ее движения.

Другой тип движения цитоплазмы – *струйчатое* – можно наблюдать в волосках, покрывающих стебель и листья тыквы. Рассматривают при большом увеличении базальную клетку волоска. Цитоплазма в ней расположена тонким слоем вдоль стенки клетки. От этого слоя отходят тяжи, пересекающие вакуоли. Соединяясь в центре клетки, они образуют ядерный кармашек, в котором лежит ядро (рисунок 15). В тяжах видно струйчатое движение цитоплазмы.

Зарисовывают одну клетку волоска; обозначают: ядро, стенку клетки, вакуоли, цитоплазму; стрелками показывают направление ее движения.

Тема 5 Хромопласты в клетках мякоти зрелых плодов

Материал. Зрелые плоды шиповника, рябины, корнеплод моркови, микроскопы, препаровальные иглы, предметные и покровные стекла.

Задания

1. Изготовить препараты клеток мякоти плодов двух-трех растений.
2. Исследовать содержимое клеток при большом увеличении и рассмотреть форму хромопластов.
3. Зарисовать одну-две клетки мякоти плодов каждого вида

растения и сделать обозначения.

Порядок работы

Острием иглы надрывают кожицу зрелого плода и достают немного мякоти. Это легко удастся, поскольку в зрелых плодах произошла естественная *мацерация* (разъединение) клеток. Мякоть переносят на предметное стекло в каплю воды, осторожно разрыхляют и накрывают покровным стеклом.

При малом увеличении находят участок со свободно лежащими клетками и при большом увеличении исследуют их. Клетки имеют округлую форму. Стенки их очень тонкие. Внутри клеток хорошо видны скопления хромопластов. В плодах рябины и боярышника хромопласты вытянутые, слегка изогнутые, с заостренными концами, в клетках плодов шиповника – овальные, в клетках плода ландыша – более или менее шаровидные (рисунок 16).

Зарисовывают при большом увеличении клетки с хромопластами из плодов двух-трех видов растений и делают обозначения: стенка клетки, хромопласты.

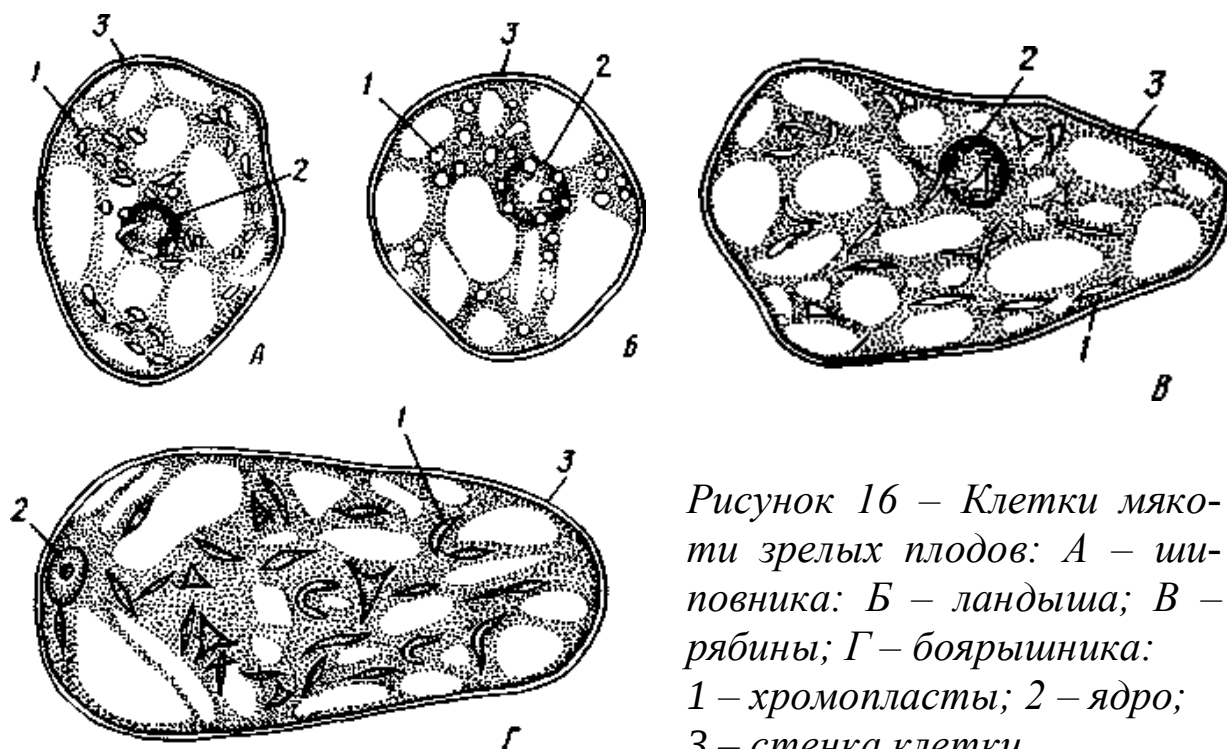


Рисунок 16 – Клетки мякоти зрелых плодов: А – шиповника; Б – ландыша; В – рябины; Г – боярышника: 1 – хромопласты; 2 – ядро; 3 – стенка клетки

Контрольные вопросы

1. Что такое разрешающая способность микроскопа?
2. Как правильно смотреть в окуляр?
3. Как перейти от малого увеличения микроскопа к большому?
4. При каких условиях, для каких целей и как используют микрометрический винт?
5. Когда пользуются винтами передвижения столика?
6. Для чего нужно покровное стекло?
7. Чем отличается временный препарат от постоянного?
8. К каким двум типам можно свести все разнообразие клеток по форме?
9. Какие органеллы покрыты одной мембраной, какие – двумя?
10. Как осуществляется связь между клетками?
11. В чем отличие вращательного движения цитоплазмы от струйчатого?
12. В клетках каких органов растений чаще всего можно встретить хлоропласты?
13. Какие пигменты имеются в хлоропластах?
14. В результате какого процесса образуется первичный крахмал и в каких органеллах?
15. Какова форма хлоропластов высших растений?
16. Одной или двумя мембранами окружен хлоропласт?
17. Какие пластиды имеются в клетках зеленых растений?
18. В чем отличие клеток растений от клеток животных?