

Ląstelės biologija

Laboratorinis darbas

Mikroskopavimas

Visi gyvieji organizmai sudaryti iš ląstelių. Ląstelės yra organų, o kartu ir viso organizmo pagrindinis struktūrinis bei funkcinis vienetas. Dauguma jų yra labai mažos, kai kurios siekia vos 1 mikrometrą (μm), todėl regimos tik mikroskopo pagalba. Ląstelėse esantys organoidai ir makromolekulės yra dar smulkesni ir matuojami nanometrais (nm). Kiekviena ląstelė gali gyventi atskirai, jei tik sukuriama palankios sąlygos, arba gali jungtis su kitomis ląstelėmis, formuojant daugialąsčius organizmus (grybai, augalai, gyvūnai). Žmogaus organizme yra daugiau nei bilijonas ląstelių, ir kiekvienas ląstelės tipas atlieka tam tikras specifines funkcijas. Skirtingos ląstelės bendrauja ir kooperuojasi viena su kita tam, kad atliktų visus kūno poreikius. Tačiau egzistuoja ir protistai – vienaląsčiai organizmai, kurie atlieka skirtingas funkcijas reikalingas gyvybei palaikyti ir dažniausiai formuoja kolonijas – laisvus nepriklausomų ląstelių sambūrius. Protistams priklauso dumbliai, pirmuonys, gleivūnai ir oomicetai (pastarieji labiau primena grybus).

Darbo tikslai ir uždaviniai:

- išmokti naudotis šviesiniu mikroskopu, žinoti jo dalis ir jų funkcijas
- stebėti žmogaus ląsteles, bakterijas ir vienaląsčius, naudojantis mikroskopu
- mokėti nustatyti apytikslį matomų objektų dydį
- žinoti ląstelių ir audinių tipus
- įvertinti ląstelių įvairovę

I. Šviesinio mikroskopo sandara

Nors XVII a., du olandai Hans ir Zacharias Janssen išrado 10 kartų padidinantį įrenginį, susidedantį iš 2 lęšių, mikroskopijos tėvu galima laikyti Antony van Leeuwenhoek, kuris suformavo pirmąjį mikroskopą, didinusių net 270 kartų ir leidžiantį stebėti ląsteles.

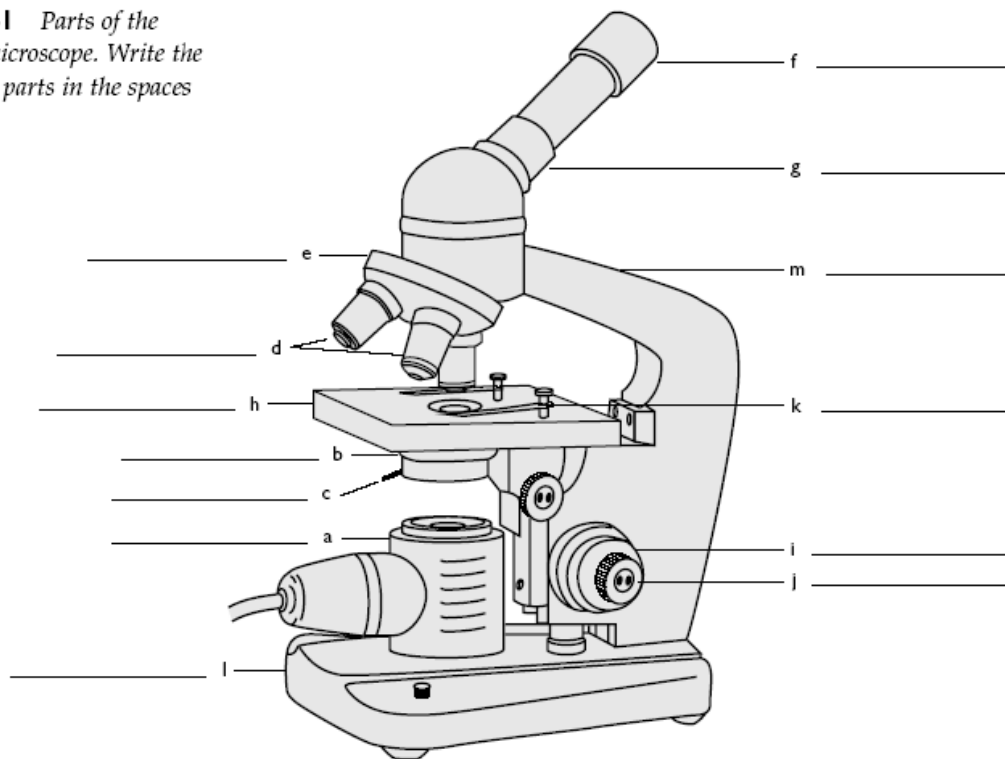
Šiame laboratoriniame darbe skirtingų ląstelių stebėjimui naudojamas šviesaus lauko šviesinis mikroskopas (iš graikų k. „mikrós“ - mažas; „skopein“ - stebėti), kuriame yra du didinantys vaizdą lęšiai – objektyvo lęšis, esantis netoli tiriamojo pavyzdžio ir okuliario lęšis cilindro viduje, pro kurį žiūrime į objektą. Šviesos spinduliai, kiaurai peršvietę tiriamąjį pavyzdį, stiklo lęšiais koncentruojami ir susidarantis vaizdas stebimas akimis. Šviesiniai mikroskopai gali didinti iki kelių tūkstančių kartų, o elektroniniai – šimtus tūkstančių kartų. Tokį didelį skirtumą lemia apšvietimas: tiek šviesos spinduliai, tiek elektronai sklinda kaip bangos, tačiau tų bangų ilgis nevienodas – elektronų bangos daug trumpesnės negu regimosios šviesos. Šis skirtumas ir lemia tai, kad elektroniniai mikroskopai gali daug daugiau didinti ir jų skiriamoji geba daug didesnė. Skiriamoji geba – tai mažiausias atstumas, per kurį vienas nuo kito nutolę du objektai įžiūrimi kaip atskiri, o ne susilieję į vieną. Šviesinio mikroskopo skiriamoji geba padidėja, kai tarpas tarp tiriamojo pavyzdžio ir objektyvo lęšio užpildomas aliejumi, taip pat kai vietoj regimosios šviesos naudojama ultravioletinė šviesa. Paprastai šviesiniu mikroskopu įžiūrimos iki 0,2 μm dydžio dalelės, tuo tarpu elektroniniu mikroskopu – iki 0,0002 μm dydžio.

Kai kuriais mikroskopais galima stebėti gyvų organizmų pavyzdžius, tačiau dažniausiai jie paruošiami specialiai: ląstelės užmušamos fiksuojančiomis cheminėmis medžiagomis, kad negestų, ir įliejamos į dervas. Jos suteikia tiriamam pavyzdžiui tvirtumo, tad jį galima supjaustyti plonyčiais sluoksneliais, kurie atskirųjų jų dalių kontrastui padidinti paprastai yra nudažomi dažais (šviesinei mikroskopijai) arba padengiami elektronus sugeriančiais metalais. Kitas būdas joms paryškinti – panaudoti specialius optinius metodus, tokius kaip fazinis kontrastas, tamsus laukas ar diferencinis interferencijos kontrastas.

Tikslai:

- 1) Surasti optines ir mechanines šviesinio sudedamo mikroskopo sistemų dalis;
- 2) Aptarti kiekvienos dalies funkciją.

Figure 1A-1 *Parts of the compound microscope. Write the names of the parts in the spaces provided.*



Pav. 1A-1

Darbo eiga:

1. Tam, kad teisingai naudotis mikroskopu, visų pirma reikia susipažinti su šio instrumento priežiūra:
 - visada neškite mikroskopą vertikaliaje pozicijoje, prilaikydami jo padą, kitaip gali iškristi okuliario lizės.
 - niekada nestatykite mikroskopo prie stalo krašto. Stebėkite elektros laidus ir sudėkite juos taip, kad nebūtų priešais mikroskopą.
 - naudokite tik specialų lizėms skirtą zomšinį valymo skudurėlį ar popierių, nes kitos medžiagos gali subraižyti arba pažeisti lizės.
 - Baigę stebėjimus mikroskopu, išjunkite iliuminatorių. Mažiausio galingumo objektyvą atstatykite į startinę poziciją.

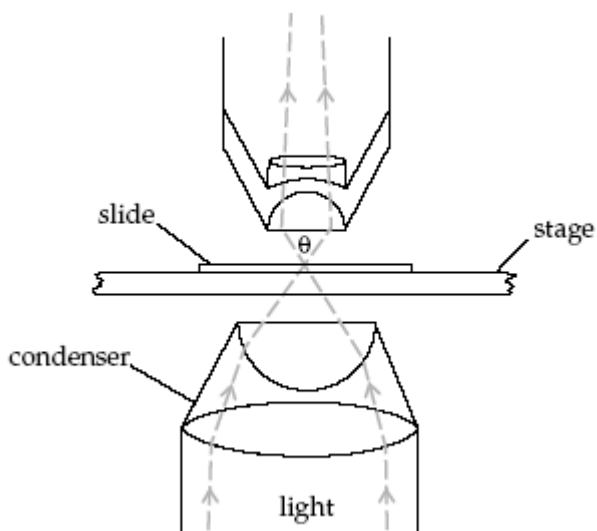
2. Mikroskopo optinės sistemos dalys (Pav. 1A-1):

a) Šviesos šaltinis gali būti integruotas į padą kartu su lizėmis, nukreipiančiomis šviesą iškart į artimesnes kondensatoriaus lizės arba gali būti atskiras, kuomet šviesa fokusuojama į kondensatoriaus lizės per veidrodėlį.

b) Kondensatorius susideda iš lizės sistemos, kuriuos nukreipia šviesą į objektą (žr. Pav. 1A-2). Kai kuriuose mikroskopuose nėra kondensatoriaus ypač jei juose nesama integruoto šviesos šaltinio; kai kurie turi mobilų arba fiksuotą kondensatorių. Jei jūsų mikroskopas turi mobilų kondensatorių, aptikite rankenėlę, kuri pakelia arba nuleidžia kondensatorių ir apibrėžkite ją diagramoje ratu.

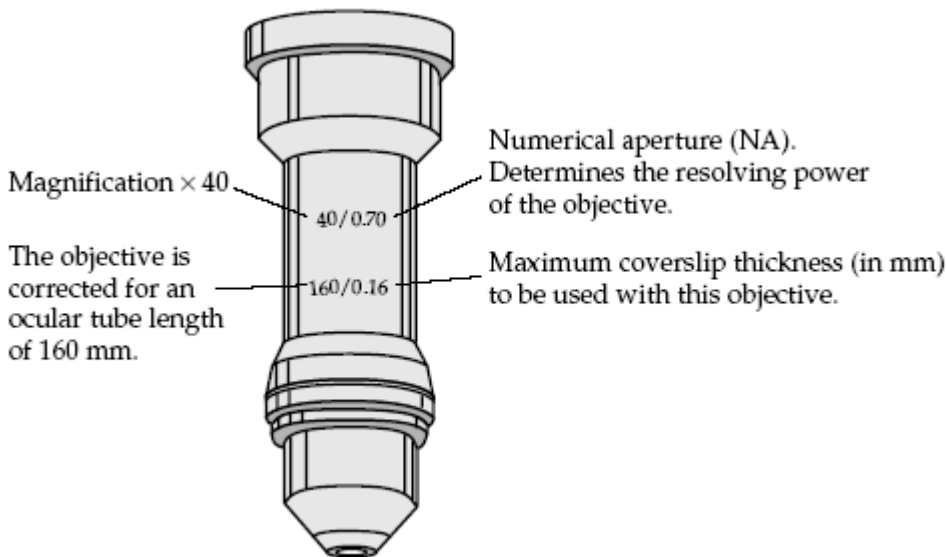
c) Vyzdinė diafragma naudojama šviesos, kuri ryškina objektą, kiekiui reguliuoti. Ji gali būti atidaryta arba uždaryta, naudojantis kondensatoriaus šone esančia svirtelė. Kai kuriuose mikroskopuose šią funkciją atlieka

apertūros diafragma. Skirtingo dydžio diafragmos plyšiai skirti objektams stebėti, esant skirtingam padidinimui.



Pav. 1A-2

d) **Objektyvo lizės** įtaisytos and pasukamos **tūtos** arba **galvutės e**. Dauguma naujųjų mikroskopų yra **parfokaliniai** („focal“ - iš angl. k. židinyš), t.y. kuomet objektas yra vienos lizės židinyje, o lizės gali būti keičiamos visiškai neparandant židinio. Kiekvienas objektyvas turi kompleksinių lizėjų sistemą. Arčiausiai bandinio esančios lizės yra **padidinančios** (angl. k. „magnification“). Padidinimą nurodo ant objektyvo šono esantis užrašas (žr. Pav. 1A-3).



Pav. 1A-3

Tūtoje paprastai yra šie objektai (palyginkite su savo turimais mikroskopais): skenuojantysis objektyvas (4x padidinimas), mažos galios objektyvas (10x padidinimas), didelės galios padidinimas (40x, 43x ar 45x padidinimas) ir aliejaus-imersinis objektyvas (100x padidinimas). Sekančios objektyvo lizės yra atsakingos už jų **skiriamąją gebą** (angl. k. „resolving power“) ribojimą. Skiriamoji geba - tai sugebėjimas išryškinti detales, įmatyti du artimus objektus kaip atskirus, o ne vieną. Kuo mažesnis atstumas tarp dviejų objektų, kurie gali būti atskirti vienas nuo kito, tuo geresnė yra instrumento, naudojamo šiems objektams stebėti, skiriamoji galia. Žmogaus akis gali atskirti (įžiūrėti) du atskirus objektus, kai jie yra mažiausiai 0,1 mm

nutolę vienas nuo kito, kai tuo tarpu naudojantis šviesiniu mikroskopu, tą patį galima padaryti objektams esant 1000 kartų arčiau vienas kito!

Skiriamoji geba (R) priklauso nuo 3 veiksnių:

$$R = \frac{\lambda}{2 [n \sin (\frac{1}{2} \theta)]}, \text{ kur}$$

1) **Kampinė apertūra (θ)** – pažiūrėkite į Pav. 1A-2. Isižiūrėkite į šviesos pluoštą, patenkantį į objektyvą. Optimali θ vertė yra kampas, kuriam esant gaunamas šviesos pluoštas, kurio diametras atitinka objektyvo diametrą. Kai kampas θ per mažas, skiriamoji geba (rezoliucija) prasta. Viena iš mikroskopo kondensatoriaus funkcijų yra sukurti idealų šviesos srauto kampą.

2) **Refrakcijos (lūžimo) indeksas (n)** – terpė tarp linzių ir objekto, per kurią turi pereiti šviesa turės įtakos šviesos srauto kampui ir atitinkamai rezoliucijai. Oro refrakcijos indeksas $n = 1$. Aliejaus refrakcijos indeksas yra didesnis ($n = 1,5$), todėl aliejus dažnai vartojamas mikroskopo skiriamajai gebai padidinti, nes didina šviesos srauto, patenkančio į objektyvą, kampinę apertūrą θ .

3) **Bangos ilgis (λ)** – kuo trumpesnis bangos ilgis, tuo didesnė objektyvo skiriamoji geba. λ reikšmė gali būti keičiama, naudojant spalvotus filtrus.

Išraiška $[n \sin \frac{1}{2} \theta]$ iš ankstesnės lygties žinoma kaip **skaitmeninė apertūra** (NA - trumpinys iš angl. k. „numeric aperture“), ir lygybė gali būti perrašyta taip:

$$R = \frac{\lambda}{2 \text{NA}}$$

Atminkite, kadangi λ yra vienintelis dydis, išreiškiamas vienetais, R dydis taip pat atitiks tuos pačius vienetus – nanometrus (nm). Tačiau skaitmeninė apertūra yra bematis dydis, kuris išgraviruojamas ant visų objektyvų šono prie skaičiaus, parodančio padidinimą (žr. Pav. 1A-3).

Kuo didesnė NA reikšmė, tuo mažesnė R. Atminkite, kuo mažesnė R, tuo geresnė objektyvo rezoliucija. Didėjant padidinimo laipsniui, didėja ir skiriamoji geba, tačiau ši priklausomybė nėra tiesinė – rezoliucija didėja mažiau nei padidinimas.

A) *Padidinimas nekeičiant rezoliucijos yra nenaudingas tyrinėjant bandinius. Kodėl?*

f) **Okuliario lizės** arba **okuliaras** – tai lizės, per kurias žiūrima į objektą. Jos paprastai padidina objekto vaizdą 10 kartų (10x). Kai kuriais atvejais mikroskopo kūno vamzdis (tūba) **g** gali būti pasukama, kad kitas asmuo galėtų pasižiūrėti į tiriamąjį objektą nejudinant viso mikroskopo. Jei jūsų mikroskopas turi vieną okuliarą, jis monokuliaras, jei du – binokuliaras.

3. Mikroskopo mechaninės sistemos dalys (Pav. 1A-1):

h) **Objektyvinis staliukas** skirtas objektiniam stikleliui padėti. Jis gali būti judinamas vertikaliai sukant **didžiąją nustatymo rankeną i** ir **mažąją nustatymo rankeną j**, kurios yra skirtingose vietose skirtingų mikroskopų atvejais, viena nuo kitos atskirtos arba kartu. Stambioji nustatymo rankena naudojama pradiniam bandinio vaizdo fokusavimui, kai naudojamas mažos galios objektyvas. Smulkioji nustatymo rankena atlieka labai nežymius pakitimus, tiksliai fokusuodama vaizdą, kai naudojamas didelės galios objektyvas.

k) **Objektyvinio staliuko laikikliai** naudojami objektiniam stikleliui prilaikyti. Jų poziciją galima keisti ranka. Jei mikroskopas neturi objektyvinio staliuko laikiklių, jame būna mechaninis objektyvinis staliukas

(nepavaizduotas Pav. 1A-1), kuris gali keisti poziciją horizontaliai, sukinėjant atitinkamas rankenėles – tuomet objektinis stiklėlis gali pasislinkti į šonus ir pirmyn ar atgal nuo stebėtojo.

I) Padas (bazė, pagrindas) ir **ranka m** yra svarbios dalys mikroskopo stabilumui ir mobilumui.

II. Šviesinio mikroskopo panaudojimas

Tikslai:

1. Išmokti teisingai naudotis šviesiniu mikroskopu;
2. Išmokti teisingai padėti bandinį ir sureguliuoti mikroskopą optimaliam naudojimui;
3. Apskaičiuoti bandinio padidinimą;
4. Apibūdinti rezoliucijos terminą ir paaiškinti, kaip ji taikoma, norint išgauti maksimalų vaizdo ryškumą.

Darbo eiga:

Tam, kad maksimaliai išnaudotume mikroskopo teikiamas galimybes, reikia teisingai sureguliuoti apšvietimą ir židinį.

1. Mikroskopas padedamas ant stalo taip, kad okuliaras būtų atsuktas į stebintįjį asmenį. Jei mikroskopas binokuliaras, sukant tarpokuliarinį diską, reikia sureguliuoti atstumą tarp abiejų okuliarų taip, kad jis atitiktų atstumą tarp stebinčiojo akių. Kai atstumas sureguliuotas, žiūrint pro okuliarą matomas vienas, išsitiesęs apvalus stebėjimo laukas.

2. Sukite tūtą į skanuojančiojo objektyvo (4x) poziciją, kol išgirsite ar pajusite ciktelėjimą, kuomet objektyvas savo vietoje.

3. Įjunkite šviesos šaltinį ir sureguliuokite apšvietimą. Didesnio galingumo objektyvams reikia daugiau apšvietimo. Pakoreguokite kondensatorių, jei įmanoma. Naudojantis 4x ar 10x mažo galingumo objektyvu, viršutinės kondensatoriaus lizės turi būti apie 5 mm žemiau nuo objektyvo staliuko, o naudojantis 40x (didesnės galios objektyvu) – pačioje aukščiausioje pozicijoje arba 2 mm žemiau objektyvo staliuko.

Geriausias būdas sureguliuoti kondensatorių yra padedant nusmailintą pieštuko galą tiesiai ant šviesos šaltinio paviršiaus, o paskui, naudojantis kondensatoriaus reguliavimo rankenėle, kilnoti ją žemyn ar aukštyn, kol pieštuko galas bus aiškiai matomas židinyje. Kondensatorius turi būti perreguliuojamas kiekvienam objektyvui. Vyzdinė diafragma arba apertūros diafragma taip pat turi būti nustatyta, kad būtų pasiektas balansas tarp kontrasto ir rezoliucijos. Šviesos kiekis, patenkęs į mikroskopą, daro įtaką tiek kontrastui (geba išskirti daiktą iš jo fono), tiek rezoliucijai (geba atskirti du taškus kaip atskirus). Geriausiai stebima tada, kai kontrastas ir rezoliucija nėra maksimalūs. Tam, kad sureguliuotume vyzdinę diafragmą, reikia nuimti okuliario lizės (arba vieną iš lizėjų, jei mikroskopas binokuliaras) ir reguliuoti diafragmos svirtimi jos lapus tol, kol tie bus vos prie šviesos apskritimo, matomo per atidarytą okuliarą, krašto. Tuomet lapai reguliuojami taip, kad jie būtų apytiksliai 1/3 kelio nuo šviesos apskritimo centro: taip pasiekiamas balansas tarp kontrasto ir rezoliucijos. Okuliario lizės įstatomos į vietą.

4. Stambioji nustatymo rankena naudojama nuleisti objektyvą į apačią prieš tai, kai ant jo padedamas objektinis stiklėlis (jei mikroskopas turi judinamą kūno tūbą, tuomet ji pakeliama į viršų).

A) Kaip turite pasukti didžiąją nustatymo rankeną (link savęs ar nuo savęs), kad atstumas tarp objektyvo ir objektyvo staliuko padidėtų?

5. Išstirkite raidės e objektyvą (iškirpkite raidę iš seno laikraščio, užlašinkite lašą vandens ir uždenkite dengiamuoju stikleliu). Padėkite jį ant objektyvo staliuko ir prispauskite laikikliais. Jei laikiklių nesama ir mikroskopo objektinis staliukas yra mechanizuotas, naudokitės dvejomis rankenėlėmis (viršutinė rankenėlė stumdo staliuką pirmyn-atgal, apatinė – į kairę-dešinę), kad objektas būtų tiesiai virš objektyvo staliuko angos.

6. Židiniui sureguliuoti reikia nuleisti objektyvo linzes, naudojantis didžiąja ir mažąja nustatymo rankenomis ir stumiant objektyvą aukštyn (arba mikroskopo kūno tūbą žemyn) tol, kol objektyvo linzės beveik sieks stiklelį. Stebėkite, kad linzės neliestų stiklelio, nes abu objektai gali būti sugadinti.

7. Žiūrėdami pro okuliarą, naudokitės didžiąja nustatymo rankena tam, kad atsargiai tolintumėte objektyvą nuo objektyvo linzių arba pakeltute tūbą aukštyn nuo stiklelio. Kai objektas tampa matomas, pradėkite sukuti mažąją nustatymo rankeną tam, kad galutinai išryškintumėte židinį. Nustatyti, kiek kartų padidintas objektas galima padauginus objektyvo linzių galią ir okuliario linzių galią. Jei naudojantės binokuliaru, įvertinti reikia tik vienos okuliario linzės galią.

Bendras padidinimas = Okuliario padidinimas x Objektyvo padidinimas

8. Pastumkite objektyvą stiklelį į dešinę.

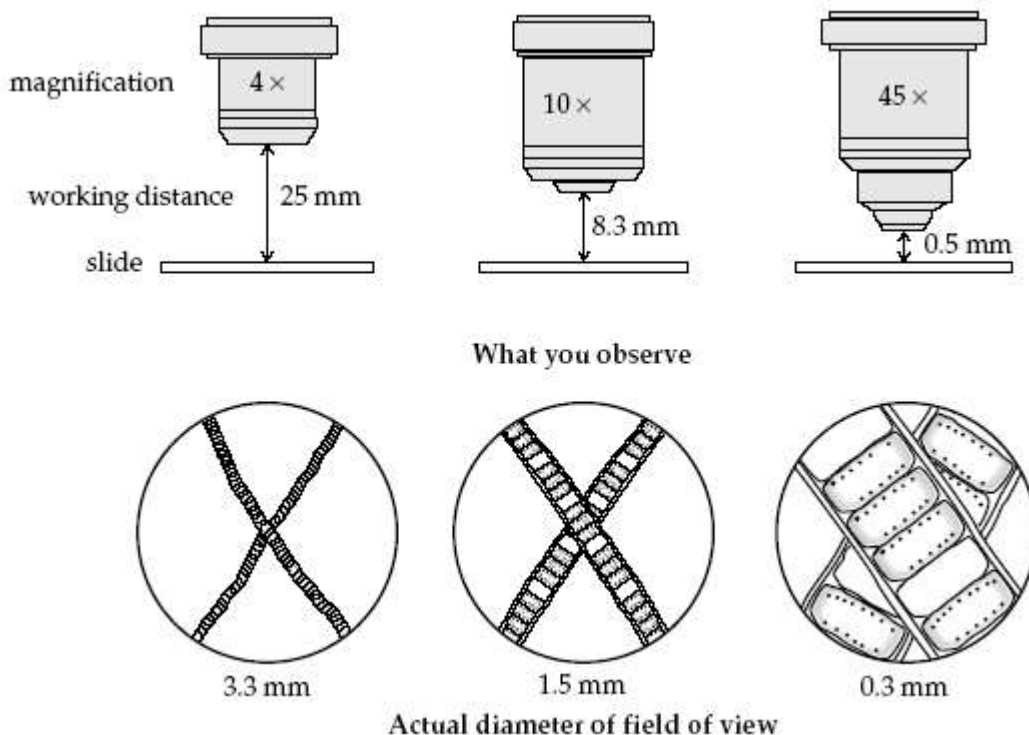
B) Į kurią pusę juda raidė e (žiūrint pro mikroskopą)? _____

C) Ar raidė apversta aukštyn kojomis? Ar ji matoma atbulai? (Svarbu atsiminti jos erdvinę poziciją)

9. Dabar pakartokite visus žingsnius 1-8 su preparatu Nr. 1 (rekomenduojama stebėti *Oscillatoria*).

10. Pasukite tūtą taip, kad stebėti galima būtų 10x objektyvu. Patikrinkite **darbinį atstumą** tarp objektyvo linzių ir objektyvinio stiklelio: jis mažėja, kai naudojami didesnės galios objektyvai ir didėja padidinimas (žr. Pav. 1B-1). Jei jūsų mikroskopas parfokalinis, tikriausiai galėsite sufokusuoti vaizdą naudojantis vien mažąja nustatymo rankena. Jei turite naudotis didžiąja nustatymo rankena, neužmirškite – niekada jos nesukite žiūrėdami per okuliarą; visada žiūrėkite iš šono. **Regos lauko** (jūsų matoma zona) dydis atvirkščiai proporcingas padidiniui: kuo didesnis padidinimas, tuo mažesnis regos lauko (žr. Pav. 1B-1).

11. Išstirkite preparatą Nr. 2 (rekomenduojama *Spirogyra* arba *Oedogonium*). Suskaičiuokite ląsteles, kurias galite pamatyti vienoje vijoje, esant 4x, 10x ir 40x padidiniui (neužmirškite, kad naudojant 10x padidinimo galios okuliario linzę, objektyvo linzių padidinimą reikia dauginti iš skaičiaus 10).



Pav. 1B-1

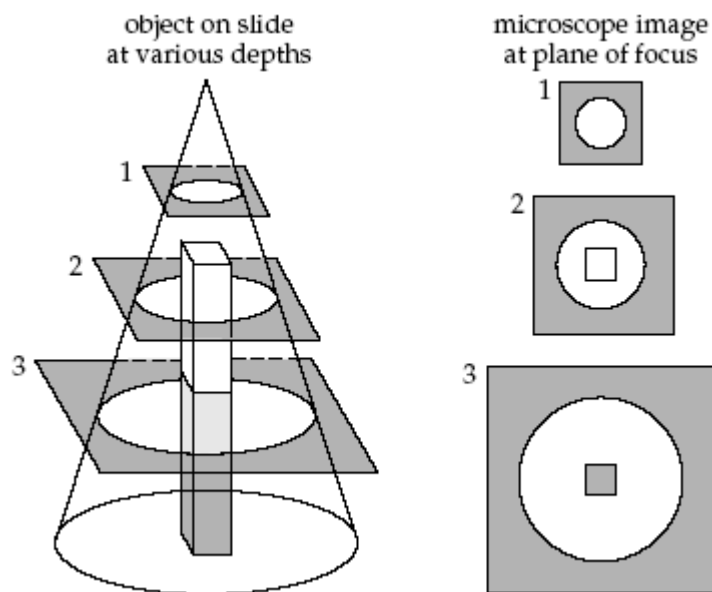
D) Kas nutiko jūsų regos lauke, kai pakeitėte 4x objektyvą į 10x arba 10x į 40x?

E) Išanalizuokite Pav. 1B-1. Ką galima pasakyti apie padidinimo ir regos lauko sąryšį?

12. Išmokite judinti objektinį stiklėlį. Įsidėmėkite ką nors regos lauke ir stebėkite objektą palengva stumdydami stiklėlį. Pabandykite keisti stiklelio poziciją taip, kad objektas judėtų ratu prie regos lauko šono, neprarandant jo iš stebėjimo zonos (šio tipo manipuliacijos bus labai naudingos stebint gyvuosius organizmus). Ryškumui nustatyti reguliuokite mažąją nustatymo rankeną.

F) Ar kai kurios objekto dalys yra židinyje, kai tuo tarpu kitų jame nesama? _____

Jei atsakėte taip, tikriausiai esate teisus. Jūsų preparatas nėra vienodo plonumo visose vietose, o gylis, kurį gali fokusuoti mikroskopas (vadinamas **lauko gyliu**), yra ribotas. Kuo didesnis padidinimas, tuo mažesnis (seklesnis, labiau paviršutiniškas) yra lauko gylis. Galite studijuoti storesnius objektus, reguliuodami mažąją nustatymo rankeną ir taip fokusuodami vaizdą skirtingose objekto plokštumose. Tai sudaro galimybę „optiškai skrostiti“ kai kurias medžiagas (žr. Pav. 1B-2).



Pav. 1B-2. Ši schema rodo, kaip fokusavimas skirtinguose objekto gyliuose (plokštumose) atskleidžia objekto struktūrą. Stebint storą preparatą didesnės galios objektyvais (40x ar 100x), galima naudotis šiuo optiniu pjūvio procesu tam, kad ištirti objektą skirtinguose gyliuose.

13. Kai sėkmingai dirbsite mikroskopu, esant 10x padidinimui, objektyvo linzes pakeiskite į didesnės galios (40x). Objektas turi būti matomas regos lauko centre, kadangi didelės galios objektyvas išdidina tik mažą regos lauko dalį, kurią prieš tai stebėjote mažos galios objektyvu (žr. Pav. 1B-1). Kad išvengtumėte nesklaidumų, vėlgi reikia atminti, kad keisdami objektyvus, procesą stebėtumėte iš šono ir nejudintumėte didžiosios nustatymo rankenos ryškumo nustatymui.

G) Koks yra bendras jūsų stebimo objekto padidinimas, stebint 40x objektyvu? Kodėl?

Nupieškite tai, ką matote regos lauke. Nepamirškite nurodyti, kokį preparatą stebite ir koks yra bendras vaizdo padidinimas.

III. Užliejamo preparato tyrimas

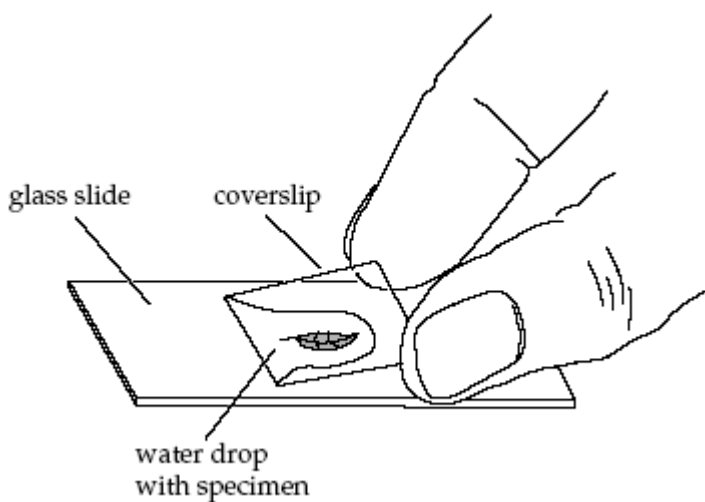
Užliejamas vandeniū preparatas yra skirtas laikinam objekto stebėjimui. Bandinys užliejamas nedideliu skysčio kiekiu ir uždengiamas dengiamuoju stikliuku.

Darbo tikslas:

Įsisavinti užliejamo preparato gamybos ir stebėjimo techniką.

Darbo eiga:

1. Ant švaraus objektinio stiklelio centro pipete arba stiklinės lazdelės pagalba užlašinkite lašą vandens. Į lašą pincetu įdėkite nuplėštą augalo *Elodea* lapo gabalėlį.
2. Bandinys uždengiamas dengiamuoju stikliuku pradėdant lašo galu ir atsargiai nuleidžiant stikliuką taip, kad vanduo po juo pasiskirstytų tolygiai (žr. Pav. 1C-1). Stebėkite, kad po stikliuku aplink bandinį nesusidarytų oro burbuliukai. Nespauskite stikliuku bandinio. Jei vandens perdaug, nusauskite perteklių popierinio rankšluosčio skiautele palei dengiamojo stikliuko kraštą.

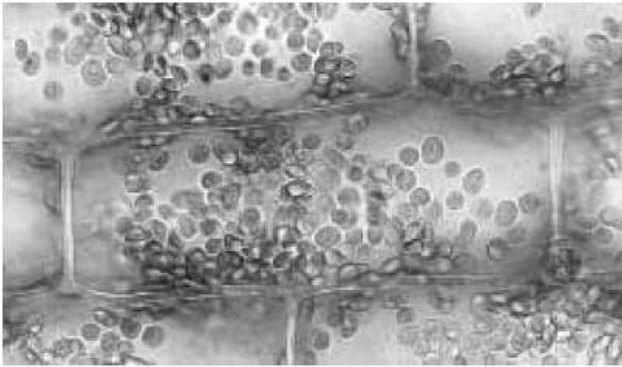


Pav. 1C-1

3. Analizuokite preparatą, naudojantis mažos galios, o po to didelės galios objektyvais. Atminkite, kad objektyvo linzėmis negalima paliesti dengiamojo stikliuko.

A) Parašykite tris priežastis, kodėl ruošiant užliejamą preparatą reikalingas dengiamasis stikliukas.

4. Naudodami 10x padidinimo objektyvu, sufokusuokite vaizdą į nuplėštąją *Elodea* lapo dalį. Atminkite, kad matoma tik viena viso lapo storio dalis ir kad lapą sudaro keli ląstelių sluoksniai. Naudodamiesi mažąja nustatymo rankena, nukreipkite vaizdą į įvairias lapo storio plokštumas (lauko gylį).
5. Dabar vaizdą stebėkite 40x objektyvu. Turėtumėte pastebėti, kad matomas net mažesnis lapo storis. Taigi įsidėmėkite, kad kuo didesnis padidinimas, tuo seklesnis yra lauko gylis (zonos, kuri yra aiškiai matoma, gylis).
6. Stebėkite *Elodea* lapo ląsteles, kuriose pamatysite judant daugybę žalių kūnelių (žr. Pav. 1C-2). Tai chloroplastai – organelės, atsakingos už augalų ląstelėse vykstančią fotosintezę. Judėjimas, kurį matote, yra vadinamas **cikloze** arba citoplazmine srove. Kadangi citoplazma juda aplink didžiulę centrinę vakuolę, su ja juda ir visos ištirpusios medžiagos, taip pat ir suspenduotos organelės.

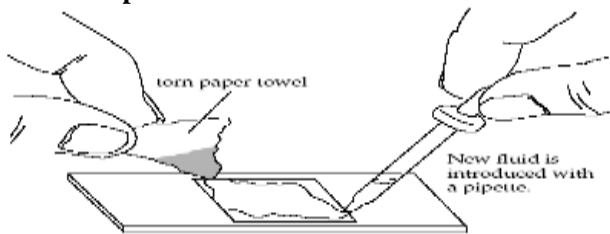


Pav. 1C-2

B) Ar ciklozės kryptis visose ląstelėse vienoda? _____

C) Kokia gali būti praktinė ciklozės reikšmė augalų ląstelėse?

7. Dabar pakeiskite skystį aplink bandinį į koncentruotos druskos tirpalą (žr. Pav. 1C-3). Užlašinkite lašą koncentruotos druskos tirpalo prie Elodea užliejamo preparato krašto. Nukreipkite skysčio srautą po dengiamuoju stikliuku kitame jo gale laikydami popierinio rankšluosčio skiautę. Atidžiai stebėkite, kas darosi ląstelėms. Tikriausiai matysite citoplazmos atsitraukimą nuo ląstelės sienelės. Šis reiškinys vadinamas **plazmolize**.



Pav. 1C-3

D) Ar plazmolizės metu ciklozė vyksta toliau ar ji sustoja? _____

8. Jei įmanoma tirti balos vandens, dumblių ar pirmuonių kultūras, taip pat paruoškite užliejamus jų preparatus, paėmę lašą kultūros terpės ant švaraus objekcinio stiklelio ir uždengę bandinį dengiamuoju stikliuku. Kai kurie vienaląsčiai organizmai, kuriuos stebėsite gan greitai judančius regos lauke, yra pirmuonys (*Protozoa*). Gali prireikti sustabdyti šių organizmų judėjimą: ant stebimos kultūros terpės užlašinkite lašą metilo celiuliozės (Protoslo) ir pamaišykite dantų krapštuku.

9. Dantų krapštuku nuo vidinės žando pusės nukrapštykite truputį apnašų. Padėkite jas ant švaraus objekcinio stiklelio, užlašinkite lašą vandens ir uždengkite dengiamuoju stikleliu. Padėkite stiklėlį po mikroskopu ir naudodami 40x didinantį lęšį apžiūrėkite ląsteles. Kokias ląstelės struktūras matote? Ar matote mėginyje bakterijų? Kelių tipų? Kaip jos išsidėstę?

B) Ant atskiro popieriaus lapo kuo detaliau nupieškite vieną ar kelis stebimus organizmus.

9. Išjunkite mikroskopo šviesos šaltinį, susukite laidą, sutvarkykite darbo vietą, preparatus grąžinkite instruktoriui, o mikroskopą nuneškite į vietą.