

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΝΟΣΗΛΕΥΤΙΚΗΣ
ΤΟΜΕΑΣ ΒΑΣΙΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΑΣΚΗΣΕΙΣ

ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΚΥΤΤΑΡΟΥ

ΑΣΚΗΣΗ 1η

ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΗ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΣΤΟ ΦΩΤΟΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΟ

Η άσκηση αυτή έχει ως στόχο: α) τη γνωριμία με το φωτομικροσκόπιο και την εξοικείωση στην χρήση του, β) την παρατήρηση κυττάρων φυτικών και ζωικών ιστών και γ) την παρατήρηση του φαινομένου της πλασμόλυσης.

A. Οδηγίες για την καλή μικροσκόπηση.

α. Ανάψτε τη φωτεινή πηγή.

β. Φέρτε τον μικρότερο αντικειμενικό φακό (Α.Φ.) στην κατακόρυφη θέση.

γ. Ρυθμίστε το διάφραγμα του συγκεντρωτήρα ώστε να έχετε αρκετό φωτισμό.

δ. Τοποθετείστε την αντικειμενοφόρο πλάκα με το δείγμα πάνω στην τράπεζα και συγκρατείστε την με το πίεστρο.

ε. Μετακινείτε με τη βοήθεια των κοχλιών την τράπεζα ώστε το δείγμα να βρεθεί κάτω από τον Α.Φ. στο κέντρο του φωτισμού (τη μετακίνηση την παρακολουθούμε από τα πλάγια).

στ. Προσέξτε να μην έλθει σε επαφή ο Α.Φ. με την αντικειμενοφόρο πλάκα και εστιάστε με τον αδρό κοχλία παρατηρώντας το δείγμα με τους προσοφθάλμιους φακούς. Η απόσταση εργασίας τώρα είναι 1 cm (σαν απόσταση εργασίας ορίζουμε την απόσταση μεταξύ του πάνω μέρους της αντικειμενοφόρου πλάκας και του μετώπου του αντικειμενικού φακού. Το διάστημα αυτό ισούται με την εστιακή απόσταση του φακού. Είναι δε αντιστρόφως ανάλογο της μεγεθυντικής ικανότητάς του).

ζ. Αφού εστιάσετε με τον αδρό κοχλία όσο μπορείτε καλύτερα, μετά, με τη βοήθεια του μικρομετρικού κοχλία (περιστρέφοντας αριστερόστροφα ή δεξιόστροφα), προσπαθήστε να δείτε όσο γίνεται πιο καθαρά το παρασκευάσμα σας.

η. Φέρτε την περιοχή του παρασκευάσματος που σας ενδιαφέρει στο κέντρο του οπτικού πεδίου μετακινώντας την τράπεζα και παρατηρείστε.

θ. Στρέψτε τον περιστρεφόμενο δακτύλιο των Α.Φ. και προχωρήστε στην αμέσως μεγαλύτερη μεγέθυνση. Συνήθως μικρή μετακίνηση του μικρομετρικού κοχλία είναι αρκετή για να εστιάσετε ξανά.

ι. Όταν τελειώσετε τη μικροσκόπηση φέρτε στην κατακόρυφο τον μικρότερο Α.Φ. και αφαιρέστε το παρασκεύασμα οριζόντια.

ΑΠΑΓΟΡΕΥΕΤΑΙ η χρήση του αδρού κοχλία όταν σε "θέση εργασίας" βρίσκεται ο αντικειμενικός X40. Η χρήση εξάλλου του μικρομετρικού κοχλία με το χέρι σε όλη τη διάρκεια της παρατήρησης είναι χρήσιμη επειδή τα διάφορα σημεία του παρασκευάσματος δεν βρίσκονται όλα στο ίδιο επίπεδο.

B. Παρατήρηση κυττάρων κρεμμυδιού (*Allium cepa*).

α. Με το ξυράφι χαράζετε την εσωτερική (κοίλη) επιφάνεια ενός λοβού από κρεμμύδι έτσι ώστε να σχηματιστεί ένα τετράγωνο με πλευρά 2-3 mm.

β. Με τη βοήθεια της λαβίδας πιάστε από μία γωνία το τετράγωνο και ανασηκώστε τη λεπτή

επιδερμίδα με αργές κινήσεις ώστε να ξεκολλήσει.

γ. Τοποθετείστε το κομμάτι μέσα σε μία σταγόνα Lugol (διάλυμα ιωδίου και ιωδιούχου καλίου) που έχετε στάξει σε μία αντικειμενοφόρο πλάκα. Προσέξτε το παρασκεύασμα να μην διπλώσει, αλλιώς προσπαθήστε να το ισιώσετε με τη λαβίδα σας, προσέχοντας να μην κακοποιήσετε τον ιστό.

δ. Τοποθετείστε καλυπτρίδα προσέχοντας να μην μείνουν φυσαλίδες από κάτω. Αυτό θα το πετύχετε αν την καλυπτρίδα την τοποθετήσετε υπό γωνία που συνεχώς μειώνετε η κλίση της, πάνω στην αντικειμενοφόρο πλάκα.

ε. Μικροσκοπήστε αρχικά με τη μικρότερη μεγέθυνση και αφού εξοικειωθείτε, τότε προχωρήστε σε μεγαλύτερη. Σχεδιάστε τι βλέπετε σε μεγέθυνση X10. Παρατηρείτε κυτταρικά οργανίδια ναι ή όχι και γιατί;

Γ. Παρατήρηση ζωικών κυττάρων.

α. Καταπιείτε καλά το σάλιο σας.

β. Εύστε με μια οδοντογλυφίδα τη γλώσσα σας.

γ. Ξεπλύνετε το υλικό που συλλέχθηκε σε μια σταγόνα Lugol που έχετε τοποθετήσει σε μια αντικειμενοφόρο πλάκα.

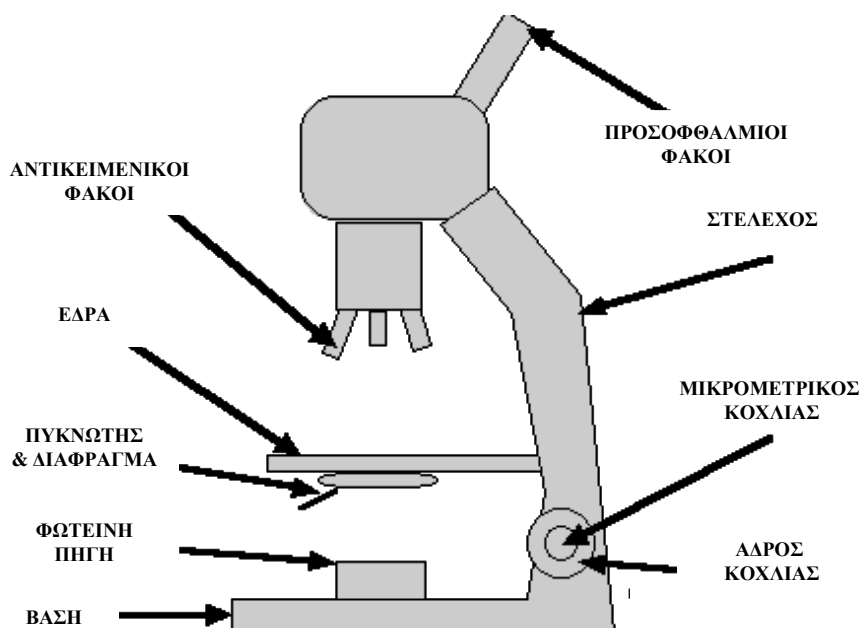
δ. Τοποθετείστε καλυπτρίδα και μικροσκοπήστε. Γράψτε τις παρατηρήσεις σας σε μεγέθυνση X40 και αναφέρετε συνοπτικά τις διαφορές με τον φυτικό ιστό.

Δ. Παρατήρηση του φαινομένου της πλασμόλυσης σε φυτικά κύτταρα

Όταν ένα κύτταρο βρεθεί σε υπέρτονο περιβάλλον, το κυτταρόπλασμα του συρρικνώνεται λόγω της εξόδου μορίων νερού από το κύτταρο. Αντίστροφα, όταν ένα κύτταρο βρεθεί σε υπότονο περιβάλλον, μόρια νερού μπαίνουν στο κύτταρο και αυτό διογκώνεται μέχρι του σημείου να σπάσει η κυτταρική μεμβράνη. Και στις δύο περιπτώσεις, το κύτταρο υφίσταται **πλασμόλυση**.

α. Τοποθετείστε ένα κομμάτι 2X2 mm από τον εσωτερικό χιτώνα του κρεμμυδιού σε αντικειμενοφόρο πλάκα και προσθέστε τόσες σταγόνες από διάλυμα σουκρόζης 1M, όσες χρειάζονται για να καλυφθεί ο ιστός, περιμένετε 10 min. Προσθέστε 2-3 σταγόνες Lugol.

β. Τοποθετείστε καλυπτρίδα και μικροσκοπήστε σε μεγέθυνση 10X και 40X. Τι παρατηρείτε;



ΑΣΚΗΣΗ 2η

ΤΟ ΑΙΜΑ

Η άσκηση αυτή έχει ως στόχο την απόκτηση πρακτικής εμπειρίας σχετικά με τα κύτταρα του αίματος με την μικροσκοπική παρατήρησή τους σε παρασκευάσματα φυσιολογικού και παθολογικού αίματος.

Παρατήρηση αίματος με χρωστική Giemsa.

Διαδικασία χρώσης

α. Απλώστε μια σταγόνα αίματος σε μια αντικειμενοφόρο. Το λεπτό επίχρισμα στεγνώνει σε λίγο.

β. Καλύψτε καλά το παρασκεύασμα με τη χρωστική μονιμοποίησης **May-Grunwald** (χρειάζεται περίπου μισή πιπέτα).

γ. Μετά 3 min ξεπλύνετε με νερό και επαναλάβετε την ίδια δοκιμασία (May-Grunwald επί 3 min, έκπλυση με νερό).

δ. Καλύψτε με **Giemsa** επί 25-30 min. Κατόπιν ξεπλύνετε με νερό και όταν στεγνώσει εντελώς μικροσκοπήστε. Είναι δυνατή η αναγνώριση ερυθρών καθώς και διαφόρων τύπων λευκών στη μεγέθυνση 40X.

1. Παρατηρήστε και ζωγραφίστε 1 ερυθροκύτταρο, 1 ουδετερόφιλο, ένα λεμφοκύτταρο και 1 μονοκύτταρο.

2. Καταμετρήστε σε όλο το παρασκεύασμα σας 50 λευκά αιμοσφαίρια, κατατάξτε τα στις διάφορες κατηγορίες λευκών αιμοσφαιρίων και υπολογίστε την % αναλογία τους (λευκοκυτταρικός τύπος).

