

## OBSAH

<b>1 LABORATOŘ PRO MIKROSKOPICKÁ STUDIA</b> .....	11
1.1 LABORATOŘ A JEJÍ VYBAVENÍ .....	11
1.1.1 Mikroskop .....	12
1.1.2 Pracovní plocha pro mikroskopování .....	12
1.1.3 Mikroskopická sklíčka .....	12
1.1.3.1 Podložní sklíčka .....	14
1.1.3.2 Krycí sklíčka .....	15
1.1.4 Preparační nástroje a pomůcky .....	15
1.1.5 Ostatní přístroje .....	17
<b>2 MIKROSKOPICKÁ POZOROVÁNÍ MIKROORGANISMŮ</b> .....	18
2.1 MIKROSKOPICKÝ PREPARÁT .....	18
2.1.1 Zhotovení nativních preparátů .....	19
2.1.2 Zhotovení barvených preparátů .....	23
2.1.2.1 Příprava preparátu pro barvení - zhotovení nátěru .....	24
2.1.2.2 Vitálně barvené preparáty .....	28
Vitální barvení metylenovou modří .....	28
Vitální barvení červení kongo .....	28
Vitální barvení erytrosinem B .....	28
Vitální barvení pomocí 2, 3, 5-trifenyltetrazoliumchloridu .....	29
Vitální barvení pomocí cotton blue v Ammanově médiu - laktofenolu .....	29
Vitální barvení pomocí acridine orange .....	29
2.1.2.3 Negativní barvení preparátů .....	29
Negativní barvení podle Burriho .....	29
Negativní barvení podle Norrisa a Swainové .....	30
Negativní barvení preparátu nigrosinem .....	30
Negativní barvení preparátu kolargolem .....	30
Negativní barvení preparátu červení kongo .....	30
2.1.2.4 Barvení fixovaných preparátů .....	30
A. Fixace preparátu .....	30
a) Fixace teplem .....	31
b) Fixace chemická .....	31
Fixace etanolem .....	31
Fixace metanolem .....	32
Fixace acetonem .....	32
Fixace směsí etanolu a éteru .....	32
Chabaudova fixační směs .....	32
Fixace formaldehydem .....	32
Fixace parami "kyseliny osmičelé" .....	32
B. Jednotlivé metody barvení .....	33
a) Obecné barvicí metody .....	33
Barvení Löfflerovou metylenovou modří ..	33
Barvení alkalickou metylenovou modří ..	33
Barvení zředěným karbolfuchsinem .....	34
Barvení karbolerytrosinem .....	34
Barvení Nicolleho karbolgentianou .....	34
Barvení Kühneho karbolmetylenovou modří ..	34

b) Diagnostické barvicí metody .....	34
Původní Gramova metoda .....	36
Nových modifikace Gramova barvení .....	36
Huckerova modifikace Gramova barvení .....	36
Rychlá modifikace Gramova barvení (Norris et Swain) .....	36
Expresní modifikace Gramova barvení (Norris et Swain) .....	37
c) Barvení acidorezistentních mikroorganismů .....	37
Barvení Ziehl-Neelsonovou metodou .....	37
Benderova modifikace Ziehl-Neelsonovy metody .....	38
Modifikace Ziehl-Neelsonovy metody s fluorescenčními barvivy .....	38
d) Cytologické barvicí metody .....	38
Barvení bičků .....	38
Kirkpatrickova metoda barvení bičků .....	39
Zettnowova metoda barvení bičků .....	40
Löfflerova metoda barvení bičků .....	40
Leifsonova metoda barvení bičků .....	40
Grayova metoda barvení bičků .....	41
Metoda Cesare-Gila barvení bičků .....	41
Barvení kapsulí .....	41
Barvení kapsulí metodou Dornera .....	41
Barvení kapsulí metodou Norrise a Swainové .....	41
Barvení kapsulí metodou Hisse .....	42
Barvení cyst podle Norrise a Swainové .....	42
Barvení spor .....	42
Jednoduchá metoda barvení spor .....	43
Barvení vývojových stadií spor podle Trujilla' .....	43
Barvení spor metodou Ožeška .....	43
Barvení spor metodou Schaeffera a Fultona .....	43
Barvení spor metodou Bartholomewa a Mittlerera .....	43
Barvení buněčné blány .....	44
Barvení buněčné blány metodou Knaysiho .....	44
Barvení buněčné blány metodou Norrise a Swainové .....	44
Barvení buněčné blány - zrychlená metoda Norrise a Swainové .....	44
Barvení volutinových inkluzí .....	44
Barvení volutinu polychromní metylenovou modří .....	44
Barvení volutinu metodou Ebela .....	45
Barvení volutinu metodou Raskina .....	45
Barvení volutinu metodou Peeterse .....	45
Barvení volutinu metodou Omeljanského .....	45
Barvení volutinu metodou Neissera .....	45
Barvení volutinu metodou Neisser-Ginsovou .....	45
Barvení volutinu metodou Alberta .....	45
Barvení intracelulárních lipidů .....	46
Barvení lipidů sudanem III .....	46
Barvení lipidů sudanem III s dobarvením protoplazmy .....	46
Barvení lipidů podle Norrise a Swainové .....	46
Barvení glykogenu a granulózy .....	46

Barvení polysacharidových inkluzí .....	46
Schiffovo barvení .....	46
Barvení alcian blue .....	47
Barvení jaderného aparátu .....	47
Barvení metodou Robinowa (podle Norrise a Swainové) .....	47
Barvení metodou Robinowa (podle Chaloupky) .....	47
Barvení metodou Robinow-Smitha .....	48
Barvení metodou Caselovou .....	48
Barvení metodou Feulgena .....	48
e) Barvení spirochét .....	48
Barvení spirochét metodou Giemsey .....	48
Barvení spirochét metodou Rupperta .....	49
Barvení spirochét metodou Fontana .....	49
f) Barvení metodou Romanowskyho (modifikace Giemsova) .....	49
g) Barvení živých a mrtvých buněk bakterií .....	50
Barvení živých a mrtvých buněk podle Pěškova .....	50
Barvení živých a mrtvých buněk podle Drobotkova .....	50
C. Zhotovení trvalého preparátu .....	50
D. Rámování preparátů .....	51
E. Provádění řezů .....	51
2.1.3 Receptář .....	52
2.1.4 Seznam citovaných barviv .....	67
<b>3 METODY MIKROKULTIVACE</b> .....	75
3.1 JEDNOTLIVÉ TYPY KOMŮREK PRO MIKROKULTIVACE .....	75
3.1.1 Dlouhodobý nativní preparát .....	76
3.1.2 Dlouhodobý nativní preparát s vyšší vrstvou uzavíracího média .....	77
3.1.3 Vlhká komůrka .....	79
3.1.4 Visící kapka v olejové lázni .....	83
3.1.5 Visící krycí sklíčko .....	85
3.1.6 Visící agarový blok .....	86
3.1.7 Perfúzní komůrky .....	88
3.1.8 Komůrky pro zástin .....	90
3.1.9 Mikrokyvety a mikroakvária .....	91
3.2 PŘÍMÉ MIKROSKOPICKÉ STANOVENÍ POHYBU MIKROORGANISMŮ .....	93
3.2.1 Stanovení pohybu a jeho měření v nativním preparátu .....	94
3.2.2 Stanovení pohybu ve visící kapce .....	94
3.2.3 Stanovení pohybu pomocí kapilár .....	94
3.2.4 Stanovení pohybu bakterií ve speciálních komůrkách .....	95
3.2.5 Mikrokinigrafické a mikrokinematografické stanovení pohyblivosti .....	96
<b>4 CHYBY A ZÁVADY PŘI MIKROSKOPOVÁNÍ</b> .....	97
<b>5 MĚŘENÍ OBJEKTŮ A JEJICH STRUKTUR</b> .....	102
5.1 Měření délky v rovině předmětové .....	102
5.1.1 Měření pomocí okulárového měřítka .....	102
5.1.2 Měření pomocí měřicího okuláru s mikrometrickým šroubem .....	110
5.1.3 Měření pomocí dělicího okuláru .....	111
5.1.4 Měření pomocí projekce obrazu na stínítko .....	112
5.1.5 Měření pomocí měřítka křížového stolku .....	113
5.1.6 Odhad rozměrů objektu podle průměru zorného pole .....	113
5.1.7 Odhad rozměrů objektu podle hodnot počítací komůrky .....	114
5.1.8 Přesnost mikroskopického měření délek .....	114



5.1.9	Staré délkové míry .....	114
5.2	MĚŘENÍ PLOCHY V ROVINĚ PŘEDMĚTOVÉ .....	114
5.2.1	Měření síťovým okulárovým mikrometrem .....	115
5.2.2	Měření plochy projekcí .....	115
5.2.3	Měření pomocí vážení (metoda Ameronnova) .....	115
5.2.4	Měření plochy podle předlohy .....	116
5.2.5	Měření ploch planimetrem .....	117
5.2.6	Přesnost mikroskopického měření ploch .....	117
5.3	MĚŘENÍ TLOUŠTKY OBJEKTU .....	118
5.4	MĚŘENÍ OBJEMU OBJEKTU .....	118
5.5	MĚŘENÍ ÚHLŮ .....	119
5.6	MĚŘENÍ ROZMĚRŮ BAKTERIÍ .....	120

<b>6</b>	<b>POČÍTÁNÍ MIKROSKOPICKÝCH OBJEKTŮ .....</b>	<b>121</b>
6.1	POČÍTÁNÍ OBJEKTŮ NA URČITÉ PLOŠE PREPARÁTU .....	121
6.1.1	Přímé počítání v zorném poli .....	121
6.1.2	Počítání pomocí okulárových masek podle Ehrlicha .....	122
6.1.3	Počítání pomocí počítacího okuláru .....	123
6.1.4	Počítání pomocí pásového okuláru podle Utermöhlha .....	123
6.1.5	Počítání pomocí okuláru podle Whipplea .....	124
6.1.6	Počítání pomocí síťového okulárového mikrometru .....	124
6.2	POČÍTÁNÍ OBJEKTŮ V URČITÉM OBJEMU .....	125
6.2.1	Počítání pomocí počítacích komůrek .....	125
6.2.1.1	Thomova komůrka .....	129
6.2.1.2	Bürkerova komůrka .....	130
6.2.1.3	Türkova komůrka .....	131
6.2.1.4	Neubauerova komůrka .....	131
6.2.1.5	Brandtova komůrka .....	132
6.2.1.6	Cyrusova komůrka I .....	133
6.2.1.7	Cyrusova komůrka II .....	133
6.2.1.8	Vošahlíkova komůrka I .....	135
6.2.1.9	Vošahlíkova komůrka II .....	136
6.2.1.10	Fuchs-Rosenthalova komůrka .....	138
6.2.1.11	Jessenova komůrka .....	138
6.2.1.12	Liebreichova komůrka .....	139
6.2.2	Počítání pomocí sedimentačních komůrek .....	140
6.2.2.1	Ploché sedimentační komůrky .....	142
	A. Komůrky typu Sedgwick-Rafter .....	142
	B. Komůrky typu planktonové komůrky podle Kolkwitze ..	144
	C. Velkoplošné komůrky podle Häuslera - Vošahlíka ..	146
6.2.2.2	Válcové sedimentační komůrky podle Utermöhlha .....	146
6.3	STANOVENÍ POČTU OBJEKTŮ POMOCÍ REFERENČNÍ SUBSTANCE .....	148

<b>7</b>	<b>METODY DOKUMENTACE A REPRODUKCE MIKROSKOPICKÉHO OBRAZU .....</b>	<b>149</b>
7.1	METODY ZOBRAZENÍ OBJEKTU KRESBOU .....	151
7.1.1	Jednoduché metody kreslení .....	152
7.1.1.1	Kreslení bez pomůcek .....	153
7.1.1.2	Kreslení pomocí vlasového kříže .....	153
7.1.1.3	Kreslení pomocí okulárové sítky .....	154
7.1.2	Kreslení pomocí kreslicích přístrojů .....	155
7.1.2.1	Kreslicí přístroje promítající reálný obraz (princip camera obscura) .....	155
	A. Speciální vertikální mikroprojekční kreslicí přístroj ..	155
	B. Horizontální mikroprojekční kreslicí přístroj .....	155

C. Projekční kreslicí zrcátko .....	157
D. Projekční kreslicí hranol .....	158
E. Kreslení pomocí mikrofotografické kamery .....	160
F. Kreslení pomocí fotografie .....	160
G. Kreslení podle negativu nebo diapozitivu mikro- fotografie .....	160
7.1.2.2 Kreslicí přístroje s virtuálním obrazem (camera lucida) .....	160
A. Přístroje s lomem paprsků přicházejících od kresby .....	161
a) Přístroje s lomem paprsků pomocí hranolu .....	161
Camera lucida .....	162
Kreslicí hranol .....	162
Kreslicí okulár .....	163
b) Přístroje s lomem paprsků pomocí zrcátka a hra- nolu .....	164
Abbeho kreslicí přístroj .....	165
Reichertův kreslicí přístroj .....	167
B. Přístroje s lomem paprsků přicházejících od pre- parátu .....	167
Wollastonova camera lucida .....	167
Oberhäuserův kreslicí okulár .....	167
7.1.2.3 Kreslicí přístroje zhotovené svépomocí .....	168
A. Projekční kreslicí přístroj pomocí mikroskopické- ho zrcátka .....	168
B. Kondenzor mikroskopu jako projekční systém .....	169
C. Kreslicí přístroj pomocí krycího sklíčka .....	170
D. Kreslicí přístroj pomocí dvou zrcadel .....	172
7.1.3 Technika vlastní kresby .....	173
7.1.3.1 Skica .....	174
7.1.3.2 Kresba tužkou .....	174
7.1.3.3 Kresba tuší .....	174
7.1.3.4 Kresba bílou tuší .....	174
7.1.3.5 Lavírovaná kresba .....	175
7.1.3.6 Barevná kresba .....	175
7.2 METODY ZOBRAZENÍ OBJEKTU FOTOGRAFIÍ .....	175
7.2.1 Fotografie zblízka .....	178
7.2.1.1 Pomůcky a příslušenství pro fotografii zblízka .....	179
A. Stativ .....	179
B. Předsádkové čočky .....	181
C. Mezikroužky .....	183
D. Měchové zařízení .....	184
E. Zaostřovací pomůcky .....	184
F. Speciální objektivy .....	186
G. Pomocné tabulky pro fotografii zblízka .....	186
7.2.1.2 Deskové přístroje s měchem .....	197
7.2.1.3 Přístroje s pevně vestavěným objektivem a bez možnosti kontroly zaostření a výřezu na matnici .....	201
7.2.1.4 Přístroje na kinofilm s dálkoměrem a výměnnými objektivy .....	202
7.2.1.5 Nepravé - dvouoké zrcadlovky .....	202
7.2.1.6 Pravé - jednooké zrcadlovky .....	203
7.2.2 Makrofotografie .....	204
7.2.2.1 Vhodný fotografický přístroj .....	205
7.2.2.2 Přístrojové sestavy .....	206
A. Maloformátové přístroje s dálkoměrem .....	208
B. Jednooké zrcadlovky na kinofilm .....	208
C. Jednooké zrcadlovky na střední formát .....	210
D. Deskové přístroje na velký formát .....	210

E. Speciální vertikální kamery s měchem .....	212
F. Zvětšovací přístroj jako kamera pro makrofotografii .....	213
G. Kamera v kombinaci se stativem mikroskopu .....	215
a) Pevné spojení kamery a stativu mikroskopu (nasazovací kamery) .....	215
Pevné spojení s jednoookou zrcadlovkou .....	215
Pevné spojení s mikrofotografickým zařízením MF .....	216
b) Volné spojení kamery a stativu mikroskopu pomocí světelné manžety .....	218
Volné spojení s jednoookou zrcadlovkou .....	219
Volné spojení s deskovým přístrojem .....	220
Volné spojení se zvětšovací přístrojem .....	220
Volné spojení s vertikální kamerou s měchem .....	220
Volné spojení s mikrofotografickým zařízením MF-ST .....	221
H. Fotomakroskop .....	221
7.2.2.3 Objektivy pro makrofotografii .....	222
7.2.2.4 Osvětlení objektu při makrofotografii .....	223
A. Makrofotografie v dopadajícím světle a tmavém poli .....	224
B. Makrofotografie v procházejícím světle a světlém poli .....	226
C. Makrofotografie v procházejícím světle a tmavém poli .....	229
D. Makrofotografie v dopadajícím světle a světlém poli .....	230
7.2.2.5 Zaostřování na objekt při makrofotografii .....	230
7.2.2.6 Negativní a inverzní materiál .....	230
A. Vlastnosti negativního materiálu .....	230
a) Senzibilizace negativního materiálu .....	231
b) Gradační vlastnosti negativního materiálu .....	233
c) Všeobecná citlivost negativního materiálu .....	233
d) Světelné aureoly - halace .....	235
e) Zrnitost negativního materiálu .....	239
f) Rozlišovací schopnost a hranová ostrost negativního materiálu .....	240
B. Volba negativního materiálu a jeho formátu .....	240
C. Zpracování negativního materiálu .....	245
7.2.2.7 Určení osvitů při makrofotografii .....	246
A. Určení správné expoziční doby .....	246
a) Určení doby osvitů odhadem .....	246
b) Určení doby osvitů expoziční zkouškou .....	247
c) Určení doby osvitů pomocí expozimetru .....	249
d) Určení doby osvitů pomocí fotocely a galvanometru .....	250
e) Určení doby osvitů pomocí automatu .....	251
B. Expoziční pružnost .....	251
C. Schwarzschildův efekt .....	251
D. Vlastní provedení osvitů .....	251
7.2.2.8 Určení měřítka zvětšení .....	252
A. Určení zvětšení pomocí simultánní fotografie měřítka .....	253
B. Určení zvětšení změřením obrazu měřítka na matnici .....	253
C. Určení zvětšení výpočtem .....	254
7.2.2.9 Praktické rady pro makrofotografii za obtížných podmínek .....	254



7.2.3	Mikrofotografie .....	256
7.2.3.1	Principy jednotlivých způsobů mikrofotografického obrazu .....	258
	A. Využití meziobrazu .....	258
	B. Vytvoření obrazu v kameře s objektivem zaostřeným na nekonečno .....	259
	C. Vytvoření obrazu přeostřením mikroskopického objektivu .....	260
	D. Vytvoření obrazu prodloužením mechanické délky tubusu .....	260
	E. Vytvoření obrazu pomocí MF-projektivů při optické délce kamery $k = 125$ mm .....	261
7.2.3.2	Přístrojové vybavení a příslušné metody mikrofotografie .....	261
	A. Mikrofotografie bez kamery .....	261
	B. Fotografie promítnutého mikroskopického obrazu ..	262
	C. Mikrofotografie pomocí fotografického přístroje s pevně vestavěným objektivem .....	262
	D. Mikrofotografie pomocí nasazovacích kamer .....	263
	E. Mikrofotografie pomocí pravých zrcadlovek .....	269
	F. Mikrofotografie pomocí projekčního nástavce .....	270
	G. Mikrofotografie pomocí maloformátových kamer s dálkoměrem .....	270
	H. Mikrofotografie deskovými přístroji .....	270
	I. Mikrofotografie pomocí zvětšovacího přístroje ..	271
	J. Mikrofotografie pomocí vertikálních kamer s měčem ..	271
	K. Mikrofotografie pomocí fotomikroskopů .....	273
7.2.3.3	Způsob osvětlení při mikrofotografii .....	273
7.2.3.4	Zaostření na objekt při mikrofotografii .....	278
7.2.3.5	Negativní materiál vhodný pro mikrofotografii .....	278
7.2.3.6	Určení osvitů při mikrofotografii .....	279
	A. Měření doby osvitů v rovině meziobrazu .....	279
	B. Měření doby osvitů v rovině výstupní pupily okuláru .....	280
	C. Měření doby osvitů v rovině matnice mikrofotografické kamery .....	281
	a) Určení doby osvitů pomocí expoziometru .....	281
	b) Určení doby osvitů pomocí fotocely s galvanometrem .....	281
	D. Jiné způsoby určení expoziční doby .....	281
	E. Faktory ovlivňující expoziční dobu při mikrofotografii .....	281
	F. Vlastní provedení osvitů .....	281
7.2.3.7	Určení měřítka zvětšení .....	282
7.2.3.8	Nejčastěji se vyskytující chyby při mikrofotografii ..	283
7.3	MIKROKINEGRAFIE .....	289
7.4	MIKROKINEMATOGRAFIE .....	289
7.5	TV-MIKROSKOPIE .....	289
7.6	MIKROPROJEKCE .....	290