

1-laboratoriya mashg`uloti.

Mavzu: Mikroskop bilan tanishish va ishlash qoidalarini o`rganish.

Mashg`ulotning maqsadi: Mikroskopning tuzilishi bilan tanishish. Mikroskop bilan ishlash ko`nikmalarini shakllantirish.

Kerakli jihozlar: Lupa, o`quv mikroskopi, doimiy preparatlar to`plami, laboratoriya jihozlari.

Nazariy qism: Mikroskop ikki asosiy qismdan tashkil topgan: optikaviy va mexanikaviy.

Optikaviy qismlar: obyektiv, okulyar, oyna, diafragma va kondensor (yorug`likni to`plovchi). Mexanikaviy qism esa optik qismlardan foydalanishni qulaylashtiradi. Oddiy mikroskopda tubus, shtativ, buyum stoli, yorug`likni to`plovchi ko`zgu (oyna), asos, obyektiv, okulyar va taglik mavjud. Tubusning yuqori qismida okulyar, pastki qismida esa obyektiv joylashgan bo`lib, uni shtativda erkin harakatlantirish mumkin. Mikroskop tubusini to`g`ri yoki egib qo`yish mumkin, uning uzunligi – 16 sm.

Mikroskop shtativi to`g`ri va egri kolonkadan iborat bo`lib, orqa tomonga qaytarib qo`yilishi mumkin. Shtativda revolver, kremalera, mikrovin, makrovin, stolcha, diafragma, dasta va oyna mavjud. Okulyar tubusning yuqori qismida joylashgan bo`lib, linzalar sistemasidan tashkil topgan. Okulyarning yuqori linzasi qancha kichik bo`lsa, uning obyektivi shuncha kattalashtirish darajasini oshiradi. Biologik mikroskoplarda ko`pincha 7x, 10x va 15x okulyarlar ishlatiladi, bu esa buyumni kattalashtirish darajasini ko`rsatadi. Obyektivning raqamlari odatda 8x, 40x va 90x bo`ladi. Obyektiv va okulyar raqamlari ko`paytirilsa, buyumning kattalashtirish darajasi aniqlanadi. Masalan, MBI-1 markali biologik mikroskop buyumni 56 barobardan 1350 barobargacha kattalashtirish imkonini beradi. Ko`rish nayiga obyektiv joylashgan uyachali revolver biriktirilgan, agar revolver bo`lmasa, obyektiv nayning tagiga burab biriktiriladi. Revolver yordamida obyektivni harakatlantirish orqali buyumni kattalashtirish darajasi o`zgaradi. Mikroskopning mikrometrik vintini burash orqali ko`rish nayini yuqoriga yoki pastga harakatlantirish mumkin, bu esa obyektiv bilan okulyar o`rtasidagi fokus masofasini to`g`rilaydi.

Buyum stolchasi odatda yumaloq yoki kvadrat shaklda bo`lib, o`rtasida teshik mavjud. Teshik orqali preparatga yorug`lik tushadi. Stolchanning orqa sirtida teshikni kengaytirib yoki toraytirib ko`rsatuvchi diafragma mavjud. Diafragma yorug`likni tartibga soladi va maxsus vint yordamida ochilib yopiladigan plastinkalardan tashkil topgan. Mikroskoplarda ko`pincha kondensor bo`lib, bu yorug`likni kuchaytirib, buyumni yanada aniq ko`rishga yordam beradi. Kondensor 2-3 linzadan iborat bo`lib, yorug`likni to`plab, buyumni aniqroq ko`rishga yordam beradi. Oyna buyum stolchasining ostiga joylashgan bo`lib, yorug`likni diafragma teshigiga yo`naltiradi.

Oynaning bir tomoni yassi, ikkinchi tomoni esa botiq bo‘ladi. Agar preparatga kuchsiz yorug‘lik kerak bo‘lsa, oynaning yassi tomoni ishlatiladi, kuchli yorug‘lik zarur bo‘lsa, botiq tomoni ishlatiladi.

Mikroskop linzalarining ishlash prinsipi. (Botanika va fizika fanlarining integratsiyasi).

Mikroskop qurilmasi fizikaning geometrik optika bo‘limi bilan uzviy bog‘liq. Mikroskopning asosiy optik tizimi linzalar to‘plamidan iborat bo‘lib, u yorug‘lik nurlarining sinishi (refraksiya) hodisasi asosida ishlaydi. Mikroskopdagi obyektiv va okulyar linzalari orqali o‘ta kichik obyektlar kattalashtirib ko‘rinadi. Bu linzalar konveks (yig‘uvchi) linzalar bo‘lib, ular tasvirni avval obyektiv orqali, keyin esa ikkinchi darajada okulyar orqali kattalashtiradi.

Fizik qonunlarga ko‘ra, har bir linzaning fokal masofasi (f) va obyektning linzaga nisbatan masofasi (d) orqali kattalashtirish kuchi quyidagicha aniqlanadi:

$$M = m_1 \times m_2 = (-q_1/p_1) \times (-q_2/p_2)$$

Bu yerda:

- m_1 — obyektiv linzaning kattalashtirish kuchi;
- m_2 — okulyar linzaning kattalashtirish kuchi;
- p va q — obyekt va tasvirning linzaga bo‘lgan masofasi.

Ko‘p hollarda mikroskopning umumiy kattalashtirish kuchi (M) quyidagi formula bilan hisoblanadi:

$$M = m_1 \text{ obyektiv} \times m_2 \text{ okulyar}$$

Masalan, agar obyektiv linzaning kattalashtirish kuchi $10\times$, okulyarning kattalashtirish kuchi esa $15\times$ bo‘lsa, umumiy kattalashtirish kuchi $150\times$ bo‘ladi.

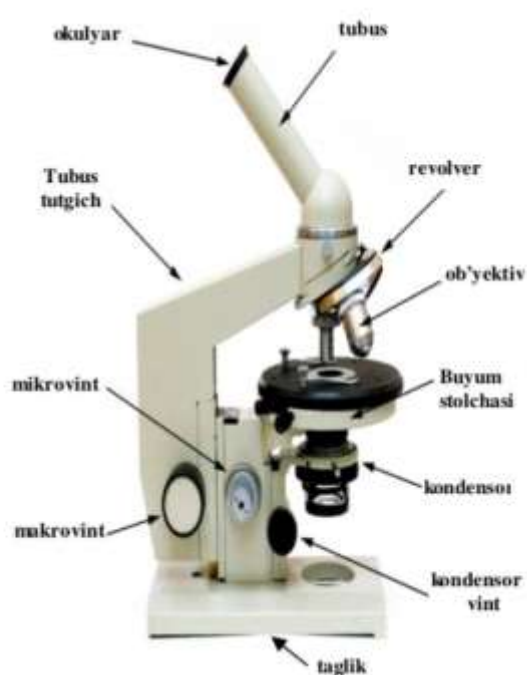
Shuningdek, mikroskopdan olingan tasvir doimo teskari (invers) va virtual (real bo‘lmagan) bo‘ladi. Linzalarning ishlash prinsipi Snell qonuni asosida – ya’ni yorug‘likning bir muhitdan boshqasiga o‘tishda egilishi (sinishi) asosida izohlanadi:

$$n_1 \times \sin(\theta_1) = n_2 \times \sin(\theta_2)$$

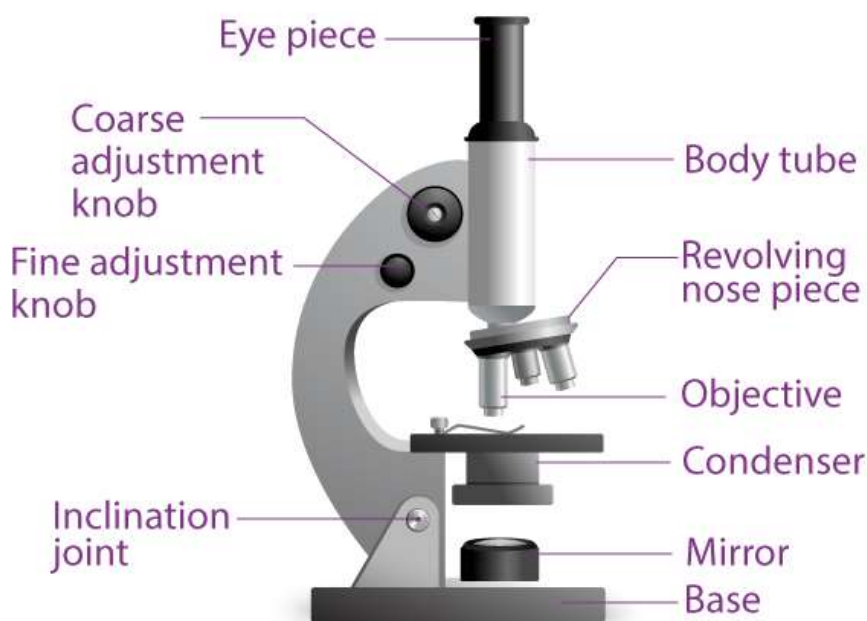
Bu yerda n – muhitning sinish ko‘rsatkichi, θ – yorug‘lik nurlarining kirish va chiqish burchaklari.

Preparat tayyorlash jarayoni juda nozik bo‘lib, talaba bu jarayonni mukammal o‘rganishi zarur, aks holda kerakli natijaga erishish qiyin bo‘ladi. Preparatni tayyorlash uchun fiksatsiyalangan yoki tirik o‘simlik bo‘laklari ustara yordamida ko‘ndalang va uzunasiga kesiladi. Kesma tekis, yupqa va kichik bo‘lishi kerak. Kesilgan bo‘lak ustara tig‘i yordamida buyum oynasiga yoki boshqa suyuqlik tomchisi ustiga joylashtiriladi, so‘ngra usti qoplagich oyna bilan yopiladi, bunda ikki

oyna o'rtasida havo qolmasligi zarur. Buyumni, masalan, hujayra yadrosini yoki sitoplazmani yaxshiroq ko'rish uchun preparatga KJ tomiziladi, bu esa uni aniqroq qiladi. Keyin, safranin, metilen ko'ki va boshqa bo'yoqlar ishlatilishi mumkin. Ushbu bo'yoqlar pipetka yordamida tomizilib, bir necha daqiqa kutgach, ortiqcha bo'yoq idishdagi suvda pipetka bilan yuvib tashlanadi. So'ngra, toza suv bilan yuvish jarayoni davom ettiriladi va suv rangsizlanguncha davom etadi. Bo'yalgan va toza suv bilan yuvilgan kesmalar igna yoki cho'tkacha yordamida glitserin tomizilgan buyum oynasiga joylashtiriladi va usti qoplagich oyna bilan yopiladi.



1-rasm. Mikroskop va uning qismlari.



2-rasm. Mikroskop qismlarining ingliz tilida nomlanishi.(Botanika va ingliz tili fanlarining integratsiyasi).

Ishni bajarish tartibi:

1. Mikroskop stolga ishlash uchun qulay holatda oʻrnatiladi. Mikroskop oynasi yorugʻlikka qarab joylashtiriladi. Agar yorugʻlik koʻproq boʻlsa, mikroskop oynasining tekis tomoni, kamroq yorugʻlikda esa botiq tomoni oʻrnatiladi. Yorugʻlikni toʻplash uchun mikroskopning 7x okulyari va 8x obyektividan foydalanish kerak. Kichik obyektiv (8x) va yoritgich oynaning botiq tomoni yordamida yorugʻlik toʻplandi va koʻrish maydoni bir tekis yoritildi.
2. Yorugʻlik yetarlicha ravshanlashgach, mikropreparatning ikki qirrasidan ushlab, mikroskop oynasiga joylashtiriladi. Preparatning qoplagich oʻynasi yuqori tomonga qarab, mikroskop stolchasidagi teshikka toʻgʻri keladigan holatda oʻrnatiladi.
3. Mikroskopda obyektlar aniq koʻrinishi uchun fokusni toʻgʻri topish kerak. Soʻng obyektiv yonidan qarab, nay kremalera (katta vint) yordamida preparatni asta-sekin pastga tushuriladi. Preparat va obyekt orasidagi masofa taxminan 0,5 sm boʻlishi kerak. Okulyarga chap koʻz bilan qarab, katta vint yordamida obyekt tasviri koʻrinmaguncha oʻng qoʻl bilan chap yoki oʻnga sekin buraladi. Preparatni diqqat bilan koʻrib chiqib, batafsil oʻrganish uchun eng yaxshi joyi tanlanadi va koʻrish maydonining markaziga joylashtiriladi.
4. Mikroskopning kichik (8x) obyektivida mikropreparatdagi obyekt aniq koʻrilib, keyin kattaroq (40x) obyektiv orqali obyekt va uning qismlari tekshiriladi. Bunda

preparat mikroskop stolidan kuzatilmasdan, faqat kremalera yordamida nayni biroz ko'tarib, revolvorni aylantirib kichik obyektivni kattaroq obyektivga almashtirish kerak. Keyin obyektivni preparat tomon sekin tushirib, juda yaqinlashtirilgach to'xtatish lozim. Katta obyektiv (40x)ga o'tganda fokusni o'zgartirmasdan, revolvorni burab, kuchli obyektivni ish holatiga keltirish zarur. Agar har ikkala obyektiv (kattaroq 40x va kichik 8x) mikroskopda almashtirilgan bo'lsa, preparatning tasviri paydo bo'ladi. So'ngra mikrovint yordamida tasvir aniqroq ko'rsatiladi. Agar tasvir paydo bo'lmasa, o'qituvchidan yordam so'raladi.

5. Okulyar orqali qarab, obyekt tasviri ko'rinmaguncha katta vintni burashda davom etiladi va obyekt fokusga keltiriladi. Kuzatish davomida doimiy ravishda bir qo'l bilan mikrovintni ikki tomonga burab, tasvirni aniq qilish kerak. Ko'zlar charchamasligi uchun mikroskop okulyariga chap ko'z bilan qaraladi, o'ng ko'z esa rasm chizishda ishlatiladi.

6. Preparat kuchli obyektivlar yordamida o'rganilayotganda mikrovintni doimiy ravishda 0,25-0,5 marta burash kerak. Mikroskopda ishlashni boshlagan paytlardan boshlab, kuchli obyektivda mikrovintdan foydalanishga o'rganish muhim.

7. Mikroskop stolchasining diagonal vintlari faqat katta obyektivda ishlashda, preparatning kerakli qismlarini ko'rish maydonining markaziga joylashtirish uchun ishlatiladi.

8. Mikroskopning optik qismlarini (yoritgich oyna, kondensor, obyektiv va okulyar linzalari) faqat toza va yumshoq mato (flanel) bilan artish kerak.

9. O'qituvchining ruxsatisiz mikroskopning qismlarini burash yoki tuzatish mumkin emas.

10. Mikroskopda ishni tugatgach, preparat olib tashlanadi va mikroskop ish holatidan chiqariladi.

11. Mikroskopni bir joydan ikkinchi joyga ko'chirganda, uni vertikal holatda ushlab turish kerak.

Preparatlarni bo'yashda ishlatiladigan kimyoviy reaktivlar (Botanika va kimyo fanlarining integratsiyasi).

Mikroskopik kuzatuv samaradorligini oshirish maqsadida o'simlik yoki hayvon hujayralarining ayrim strukturaviy qismlarini bo'yash usuli qo'llaniladi. Bunda biologik preparatlarning optik mikroskopda aniq ko'rinishini ta'minlovchi kimyoviy bo'yoqlar — biologik reaktivlar ishlatiladi. Ular kimyoviy xossalari va maqsadga muvofiqligiga qarab tanlanadi.

Laboratoriya mashg'ulotida ishlatiladigan asosiy kimyoviy reaktivlar:

1. Metilen ko'ki ($C_{16}H_{18}ClN_3 \cdot xH_2O$)

- Kimyoviy sinfi: bazik bo‘yoq (azin sinfiga kiradi).
- Ishlatilishi: hujayra yadrosini va DNKni bo‘yashda keng qo‘llaniladi.
- Kimyoviy xossasi: metilen ko‘ki nuklein kislotalar bilan reaksiyaga kirishib, ularni aniq ko‘rinadigan ko‘k rangga bo‘yaydi.

2. Safranin (C₂₀H₁₉ClN₄)

- Kimyoviy sinfi: bazik bo‘yoq (fenazin hosilasi).
- Ishlatilishi: hujayra devori va sitoplazmani qizil rangda bo‘yaydi, kontrastli tasvir olishda muhim.
- Xususiyati: ko‘pincha metilen ko‘ki bilan kombinatsiyada qo‘llanadi (masalan, Gram bo‘yash usuli).

3. Yod eritmasi (Lugol eritmasi – yod+kaliy yodid)

- Ishlatilishi: kraxmal, selluloza va hujayra devorini aniqlashda qo‘llaniladi.
- Kimyoviy asos: polisaxaridlarga ta’sir qilib quyuq binafsha rang hosil qiladi.

Kimyo faniga integratsiya orqali talabalar quyidagilarni o‘rganadilar:

- Reaktivlarning molekulyar tarkibi va ularning biologik tuzilmalarga ta’siri;
- Kimyoviy bo‘yoqlarning pHga bog‘liq faoliyati (bazik yoki kislotali muhitda bo‘yash ta’siri);
- Bo‘yoqlarning fiksatsiya xususiyatlari va qo‘llanish texnikasi;
- Rivojlantirilgan rang kontrasti yordamida hujayra qismlarining optik tahlili.

Mikroskopning yaratilish tarixi. (Botanika va tarix fanlarining integratsiyasi).

Davr / Yil	Olamshumul voqea / Kishi	Tavsif
Mil. 1-asr (taxminan)	Rimlik olim Seneka	Suv orqali kattalashtirish hodisasini kuzatgan.
13-asr	Anglikan olimi Rojer Bekon	Oddiy linzalar yordamida obyektlarni kattalashtirish mumkinligini yozgan.
1590-yillar	Zakariya Yanssen (Gollandiyalik)	Birinchi oddiy bir necha linzali mikroskop ixtiro qilingan (taxminiy).

Davr / Yil	Olamshumul voqea / Kishi	Tavsif
1609–1610	Galileo Galiley	O‘zining “occhiolino” nomli sodda mikroskopini yasagan.
1665	Robert Guk	“Micrographia” asarida hujayrani birinchi bor tasvirlab berdi.
1674	Antoni van Livenhuk (Gollandiyalik)	Yagona linzali kuchli mikroskop yordamida bir hujayrali organizmlarni kashf etdi.
19-asr	Abbe va Zeiss	Optik mikroskoplarda muhim yaxshilanishlar; achromatic linzalar ishlab chiqildi.
1931	Ernst Ruska va Max Knoll	Elektron mikroskop ixtiro qilindi – ko‘proq aniqlikda kuzatish imkoniyati.
1981	STM – Tunnel mikroskopi	Nanohajmdagi strukturalarni ko‘rish imkonini berdi (qattiq sirtlar).
1986	AFM – Atom-kuch mikroskopi	Yuzani atom darajasida “sezuvchi” mikroskop ixtiro qilindi.